

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Alkoholické a jiné syrovátkové nápoje**  
**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Stanislava Malá**

**Vedoucí práce: Ing. Veronika Legarová, Ph. D.**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Alkoholické a jiné syrovátkové nápoje" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10. dubna 2015

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Veronice Legarové, Ph. D. za odborné vedení, podnětné rady a cenné konzultace při zpracování diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala paní Ing. Miroslavě Potůčkové a panu Ing. Pavlu Novému, Ph. D. za podnětné rady při zpracování diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Polabským mlékárnám a.s. Milko, Výzkumnému ústavu pivovarskému a sladařskému a.s., O. K. Servisu BioPro s.r.o. a školnímu minipivovaru Suchdolský Jeník za poskytnutí materiálu.

Také bych tímto chtěla poděkovat za pomoc svému příteli Ondřeji Červinkovi a svým rodičům, tatínkovi a mamince za velkou pomoc, podporu a trpělivost, kterou se mnou měli během zpracování mé diplomové práce.

# Alkoholické a jiné syrovátkové nápoje

## Souhrn

Ve své diplomové práci "Alkoholické a jiné syrovátkové nápoje" jsem se v teoretické části věnovala funkčním a výživově – fyziologickým vlastnostem syrovátky a syrovátkových bílkovin neboť se syrovátka pyšní vysokou biologickou hodnotou. V první části popisují složení a význam syrovátky. Dále se věnuji syrovátkovým bílkovinám a jejich povrchově aktivním a funkčním vlastnostem. Ve své práci jsem se také zaměřila na jednotlivé komponenty syrovátkových bílkovin. Dále jsem se věnovala technologickým operacím při zpracování syrovátky a komerčně dostupným syrovátkovým produktům. V poslední řadě jsem se zaměřila na alkoholické nápoje, na jejich historii, na samotný ethanol a methanol, na metody stanovení alkoholu, na proces fermentace a hlavně na syrovátkové nápoje.

V teoretické části, kde se věnuji syrovátkovým nápojům, jsem se zaměřila na různé typy těchto nápojů od dietetických, nealkoholických až po fermentované a alkoholické. I když už se v současné době neobjevují na trhu jen instantní syrovátkové nápoje ze sušené syrovátky, ale i nápoje z čerstvé syrovátky, bývá ještě stále ekonomicky efektivní zpracování a využití syrovátky určitým problémem pro mlékárenský průmysl.

Cílem této diplomové práce bylo posoudit vhodnost kyselé syrovátky pro výrobu alkoholických a jiných syrovátkových nápojů. Nápoje byly připravovány z čerstvé kyselé kravské syrovátky, která vzniká jako vedlejší produkt při výrobě tvarohů.

Nápoje z tekuté kyselé kravské syrovátky byly připravovány smícháním s ochucujícími složkami. Každý nápoj se mírně lišil ve složení. Některé vzorky byly smíchány s 100% pomerančovou šťávou, oslazeny sacharosou (1 % a 2 %) a okyseleny kyselinou citronovou (1% roztok) nebo byly jen okyseleny kyselinou citronovou. Dále byly připraveny vzorky bez 100% pomerančové šťávy pouze okyseleny kyselinou citronovou (1% roztok). Nebo byly takto připravené vzorky oslazeny sacharosou (1 % a 2 %) a okyseleny kyselinou citronovou. Naopak v experimentu „syrovátkové pivo“ byla v určitém poměru míchána mladina se syrovátkou, případně s 100% pomerančovou šťávou, sacharosou a kyselinou citronovou. Takto připravené nápoje byly fermentovány vybranými tekutými, ale i sušenými kulturami.

Senzorický profil fermentovaného syrovátkového nápoje byl hodnocen po jednom dni skladování při teplotě 6 – 8 °C panelem proškolených hodnotitelů. Pro senzorické hodnocení

byla použita 100 mm dlouhá, lineární, grafická, nestrukturovaná, orientovaná stupnice (ISO 13299, ISO 6658, ISO 6564). Všechna naměřená data byla vyhodnocena pomocí statistiky. Prostřednictvím senzorické analýzy byly nejlépe hodnoceny fermentované syrovátkové nápoje obsahující hlavně mladinu a sušenou kulturu *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*.

Dále byly sledovány změny aktivní a titrační kyselosti před fermentací a po fermentaci syrovátky, složení syrovátky a fermentovaného syrovátkového nápoje na přístroji MilcoScan FT 120 Foos.

Pomocí plynového chromatografu bylo zjištěno, že ethanol obsahovaly syrovátkové nápoje fermentované tekutou kulturou *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, nápoje fermentované tekutou kulturou vinných kvasinek Vinflora a sušenou kulturou *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*. Syrovátkové nápoje obsahující jogurtovou a keřirovou kulturu ethanol neobsahovaly.

**Klíčová slova:** syrovátka, nápoje, bakterie, kvasinky, fermentace, alkohol, senzorická analýza

## **Summary**

In my thesis, "Alcoholic and other whey beverages" I was in the theoretical part devoted functional and nutritional - physiological characteristics of whey and whey protein because whey boasts high biological value. In the first section I describe the composition and significance of whey and I pay attention to the surfactant and physiological properties of whey proteins. In my study, I also focused on the individual components of whey protein. Furthermore, I devoted technological operations during whey processing and commercially accessible whey products. Finally, I focused on alcoholic beverages, their history, and the very ethanol and methanol, the method of determining the alcohol, fermentation process and especially on whey beverages.

In the theoretical part, where I devoted whey beverage, I focused on different types of dietary and soft beverages and fermented and alcohol whey beverages. Though it is currently on the market appear only instant whey drinks from whey powder, as well as from fresh whey beverages, it is still economically effective processing and use of whey certain problem for the dairy industry.

The aim of this thesis was to evaluate the suitability of acid whey for production of alcoholic and other whey beverages. Drinks were prepared from fresh cow acid whey, which is a by product of cheese.

Drinks from cow's whey acidic liquid were prepared by mixing with tasting ingredients. Each beverage is slightly different in composition. Some samples were mixed with a 100% orange juice sweetened with sucrose (1 % and 2 %) and acidified with citric acid (1% solution) or were only acidified with citric acid. Further were prepared samples without 100% orange juice only acidified with citric acid (1% solution). For thus prepared samples were sweetened with sucrose (1 % and 2 %) and acidified with citric acid. Conversely experiment „whey beer“ was stirred in a certain ratio wort and whey and possibly 100% orange juice, sucrose and citric acid. The prepared beverages were fermented selected liquid, but also dried cultures.

Sensory profile of fermented whey beverages was evaluated after one day of storage at 6 – 8 °C panel of trained evaluators. For sensory evaluation was used 100 mm long, linear, graphical, unstructured, oriented scales (ISO 13299, ISO 6658, ISO 6564). All measured data were evaluated using statistics. Through sensory analysis were best evaluated fermented whey

beverages containing mainly wort and dried culture of *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*.

We also investigated the changes of active and titratable acidity before fermentation and after fermentation of whey, composition whey and fermented whey beverages the unit MilcoScan FT 120 Foos.

Using a gas chromatograph, it was found that ethanol containing whey drinks fermented liquid culture of *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, beverages fermented liquid culture of wine yeast Vinflora and dried culture of *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*. Whey beverages containing yoghurt and kefir culture did not contain ethanol

**Keywords:** whey, beverage, bacteria, yeast, fermentation, alcohol, sensory analysis

## Obsah

1	Úvod.....	12
2	Vědecká hypotéza a cíl práce.....	13
2.1	Vědecká hypotéza .....	13
2.2	Cíl práce .....	13
3	Literární rešerše .....	15
3.1	Syrovátka, její složení a význam.....	15
3.1.1	Syrovátkové bílkoviny.....	17
3.1.2	$\beta$ -laktoglobulin .....	19
3.1.3	$\alpha$ -laktalbumin.....	20
3.1.4	Bovinní sérový albumin .....	21
3.1.5	Imunoglobuliny .....	21
3.1.6	Laktoferin .....	22
3.1.7	Laktoperoxidasa.....	22
3.1.8	Glykomakropeptid .....	22
3.1.9	Proteoso-peptony .....	23
3.2	Syrovátka a její výživově-fyziologický význam.....	23
3.3	Povrchově aktivní a funkční vlastnosti bílkovin.....	24
3.3.1	Povrchově aktivní vlastnosti.....	24
3.3.2	Funkční vlastnosti bílkovin .....	24
3.4	Technologické operace při zpracování syrovátky.....	25
3.4.1	Separace jednotlivých složek syrovátky.....	26
3.4.2	Membránové procesy .....	26
3.5	Komerčně dostupné syrovátkové produkty.....	27
3.6	Historie a současnost alkoholických nápojů .....	28
3.6.1	Alkohol v České Republice .....	30
3.6.2	Alkohol a jeho nutriční aspekty.....	32
3.6.3	Metabolismus alkoholu .....	35



3.7	Metody stanovení alkoholu .....	39
3.7.1	Destilační metoda .....	39
3.7.2	Metoda plynové chromatografie.....	40
3.7.3	Refraktometrická metoda .....	40
3.7.4	Blízká infračervená spektroskopie.....	40
3.7.5	Měření alkoholu pomocí ultrazvuku .....	40
3.7.6	Head-space analýza .....	41
3.8	Fermentace .....	41
3.8.1	Mléčné kvašení .....	41
3.8.2	Alkoholové kvašení .....	41
3.8.3	Octové kvašení .....	42
3.9	Mléčné fermentované nápoje .....	42
3.9.1	Kefir.....	42
3.9.2	Kumys.....	42
3.10	Alkoholické a jiné syrovátkové nápoje .....	43
3.10.1	Syrovátkové nápoje – nealkoholické.....	44
3.10.2	Dietetické nápoje .....	46
3.10.3	Nápoje připravené ze sušené syrovátky.....	48
3.10.4	Fermentované syrovátkové nápoje .....	48
3.10.5	Alkoholické syrovátkové nápoje .....	49
4	Materiál a metody .....	51
4.1	Materiál .....	51
4.2	Přístroje .....	52
4.2.1	Laboratorní sklo, chemikálie a jiné pomůcky .....	52
4.3	Metodika .....	53
4.4	Příprava čerstvé kyselé syrovátky před fermentací.....	53
4.5	Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje .....	54

4.5.1	Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje pomocí jogurtové kultury.....	54
4.5.2	Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje pomocí keřirové kultury.....	55
4.5.3	Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje pomocí <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> .....	55
4.5.4	Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje podobnému vínu pomocí vinných kvasinek Vinflora.....	56
4.5.5	Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje podobnému pivu pomocí <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> .....	57
4.6	Analýza vzorků .....	58
4.6.1	Stanovení aktivní kyselosti syrovátky .....	58
4.6.2	Stanovení titrační kyselosti.....	58
4.6.3	Složení vzorků pomocí přístroje MilcoScan FT 120 Foos .....	58
4.6.4	Senzorická analýza .....	59
4.6.5	Stanovení ethanolu ve vzorku pomocí metody plynové chromatografie .....	60
5	Výsledky .....	60
5.1	Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (jogurtová kultura) ....	60
5.1.1	Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (jogurtová kultura) .....	60
5.1.2	Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti (jogurtová kultura).....	63
5.1.3	Výsledky senzorického hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů.....	64
5.2	Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (keřirová kultura) .....	67
5.2.1	Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (keřirová kultura) .....	67
5.2.2	Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti (keřirová kultura).....	70
5.2.3	Výsledky senzorického hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (keřirová kultura) .....	71
5.3	Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> ) .....	72
5.3.1	Složení fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> )	72

5.3.2	Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> )	75
5.3.3	Výsledky senzoričkého hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> )	77
5.4	Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora)	78
5.4.1	Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora)	78
5.4.2	Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti	81
5.4.3	Výsledky senzoričkého hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora)	82
5.5	Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> )	84
5.5.1	Složení fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> )	84
5.5.2	Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti	86
5.5.3	Výsledky senzoričkého hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> )	88
5.6	Výsledky stanovení ethanolu ve vzorcích pomocí plynové chromatografie	89
6	Diskuse	94
7	Závěr	101
8	Seznam použité literatury	102
9	Seznam grafů	115
10	Seznam obrázků	116
11	Seznam tabulek	117
12	Seznam použitých zkratk a symbolů	118
13	Seznam samostatných příloh	119

## 1 Úvod

Syrovátka je kapalina, která se získá po vysrážení kaseinu v mléce. Tento proces může probíhat za pomoci přídavku kyseliny nebo prostřednictvím působení proteasy - chymosinu (Zadow, 2003). Syrovátka patří k vedlejším mlékárenským produktům. Vzniká během výroby sýrů, tvarohu a kaseinu. Dříve byla tato žluto-zelená, nutričně bohatá kapalina považována za pouhý odpad mlékárenského průmyslu. Hlavní a jediné využití měla jako součást hnojiva nebo byla jako odpad jednoduše likvidována. Při likvidaci unikala do spodních vod, což následně vedlo ke znečištění životního prostředí (Cryan, 2001, Gonzá'lez-Martí'nez et al., 2002). Pokud se během likvidace syrovátka dostala do půdy, představovala závažný problém z hlediska ovlivnění chemické a fyzikální struktury. To mohlo následně vést ke snížení úrodnosti půdy. Pokud se ovšem syrovátka dostane do vody má negativní dopad na vodní život, protože je schopna z vody vyčerpávat rozpuštěný kyslík (Drbohlav et al., 2009).

Postupem času se tato nutričně bohatá kapalina stala součástí krmiv (pro odstavená prasata a prasnice v laktaci). Rozvoj počítačových systémů umožnil její přesnější zkrmování (Tunick, 2008). Předpokládalo se, že její význam v budoucnosti razantně poroste (Onwulata et Tomasula, 2004).

Nyní se stala vyhledávaným produktem, protože obsahuje nejen laktosu, minerály, ale i proteiny, které propůjčují potravinám velmi dobré funkční vlastnosti (Onwulata et Tomasula, 2004). Suková (2006) uvedla, že bylo v roce 1970 využito ke krmení pouze 95 % vyrobené syrovátky a pro lidskou výživu to bylo jen 5 %. K postupnému vyrovnání došlo až v roce 2000 na poměr 50 : 50. Předpokládá se, že by se v budoucnu mohlo využít pro lidskou výživu až 70 % vyrobené syrovátky. S rostoucí produkcí mlékárenského průmyslu, roste i produkce syrovátky a její využití pro vývoj nových potravinářských a farmaceutických výrobků. Syrovátka a syrovátkové bílkoviny se staly součástí kojenecké výživy, potravinových doplňků a nápojů. Syrovátka dále nachází své uplatnění ve výživě sportovců, v pekařském, mlékárenském a masném průmyslu.

Přeměna syrovátky na fermentované, ale i nefermentované nápoje je v potravinářském průmyslu jednou z nejvíce atraktivních cest, jak využít tuto žluto-zelenou tekutinu („mlékárenský odpad“) k lidské spotřebě (Sakhale, 2012). Touto problematikou se zabývá i má diplomová práce.

## **2 Vědecká hypotéza a cíl práce**

### **2.1 Vědecká hypotéza**

Přídavek ochucujících složek pozitivně ovlivňuje sensorickou kvalitu syrovátkových nápojů. Při aplikaci vybraných kultur do kyselé syrovátky se předpokládá přítomnost ethanolu ve finálním výrobku (experimentu). Aplikace pивních kvasinek typických pro spodní kvašení spolu s mladinou dodá syrovátce chuť podobající se chuti piva. Použití vinných kvasinek pravděpodobně propůjčí fermentovanému syrovátkovému nápoji sensorické vlastnosti, podobné sensorickým vlastnostem vína (kvašeného moštu vinné révy). Sensorická kvalita syrovátkových nápojů je vyšší v případě ochucených, popř. alkoholických nápojů.

### **2.2 Cíl práce**

Poptávka po ochucených mléčných a syrovátkových nápojích čím dál tím více vzrůstá. Tyto nápoje začínají získávat významné postavení jako občerstvující a žízeň zahánějící nápoje. V zahraničí jsou tyto výrobky hojně vyhledávaným artiklem jako například Rivella ze Švýcarska. Je snaha o výrobu stále nových výrobků tohoto typu, inovují se balení, vymýšlejí se nové příchutě. V současné době lze na českém trhu nalézt širokou paletu příchutí sušené syrovátky. Na druhou stranu je u nás ještě minimální nabídka syrovátkových nápojů. Zatím ještě stále málo mlékárenských podniků tuto žluto-zelenou tekutinu úplně zpracovává. Vzhledem k tomu, že při výrobě sýrů a tvarohů vzniká i velké množství syrovátky až devítinásobné, je nutné stále hledat možnosti a nové, progresivnější technologie, jak efektivní, tak i ekonomicky výhodné pro využití této suroviny.

Cílem této diplomové práce bylo nejen zhodnotit složení a vhodnost kyselé syrovátky pro výrobu alkoholických a jiných syrovátkových nápojů, ale hlavně i využití a možnosti použití vhodných bakteriálních a kvasinkových kultur pro výrobu fermentovaných nápojů.

Jednotlivé cíle diplomové práce byly:

- zhodnotit složení a posoudit možnosti využití kyselá kravská syrovátka pro přípravu fermentovaných syrovátkových nápojů,
- návrh složení fermentovaného syrovátkového nápoje,
- fermentace tekutými, ale i sušenými kulturami,
- příprava fermentovaných syrovátkových nápojů,
- senzorický profil fermentovaného syrovátkového nápoje,
- sledování změn aktivní a titrační kyselosti před fermentací a po fermentaci syrovátky,
- složení fermentovaného syrovátkového nápoje před a po fermentaci na přístroji MilcoScan FT 120 Foos,
- sledování obsahu alkoholu – ethanolu na plynovém chromatografu ve fermentovaném syrovátkovém nápoji.

Význam této práce spočívá v možnostech potravinářského využití kyselá kravská syrovátka, která je vedlejším produktem při výrobě tvarohů.

### 3 Literární rešerše

#### 3.1 Syrovátka, její složení a význam

Složení syrovátky je značně závislé na složení mléka a také na technologiích, které jsou použity během výrobních procesů.

Suková (2006) uvádí, že je v syrovátce obsaženo až 50 % sušiny mléka. Hodnota sušiny se pohybuje kolem 5,5 – 6,5 %. Typické složení sladké a kyselé syrovátky je uvedeno v Tabulce 1. Laktosa (mléčný cukr) tvoří největší podíl (asi 70 – 80 % sušiny). Laktosa svou chemickou strukturou patří do skupiny disacharidů. Molekula je složena z D – glukosy a D – galaktosy vázaných  $\beta$  - glykosidickou vazbou. V kyselé syrovátce je obsah mléčného cukru nižší, protože dochází k přeměně laktosy na kyselinu mléčnou (Suková, 2006). Proteiny tvoří přibližně 10 % sušiny. Zbytek podílu je tvořen nebílkovinnými dusíkatými látkami, tuky, kyselinami (kyselina citronová a kyselina mléčná), vitaminy skupiny B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>), vitamin A, vitamin C (Tabulka 2), minerálními látkami (Tabulka 3) a stopovými prvky (Tabulka 4). Dále jsou ve velmi nízkém množství obsaženy enzymy, hormony a růstové faktory (de Wit, 2001). Tabulka 5 uvádí průměrný obsah aminokyselin v syrovátce. Jeličić et al. (2008) uvádí, že obsažený vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin) propůjčuje syrovátce charakteristickou žluto-zelenou barvu.

Tabulka 1: Typické složení (g/l) sladké a kyselé syrovátky

Komponenta	Sladká syrovátka (g/l)	Kyselé syrovátka (g/l)
Celková sušina	63,0 – 70,0	63,0 – 70,0
Laktosa	46,0 – 52,0	44,0 – 46,0
Bílkoviny	6,0 – 10,0	6,0 – 8,0
Laktáty	2,0	6,4
Vápník	0,4 – 0,6	1,2 – 1,6
Fosfáty	1,0 – 3,0	2,0 – 4,5
Chloridy	1,1	1,1

(Jelen, 2003)

Tabulka 2: Vitaminové složení sušené syrovátky

Vitamin	Sladká syrovátka	Kyselá syrovátka
Vitamin A [ $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ]	69 - 240	47 - 165
Vitamin C [ $\text{mg}/100\text{ g}$ ]	0 - 9,08	0 - 0,99
Vitamin B <sub>6</sub> [ $\text{mg}/100\text{ g}$ ]	0,36 - 0,77	0,46 - 0,96
Vitamin B <sub>12</sub> [ $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ]	0,9 - 3,7	0,15 - 3,7
Vitamin E- tokoferol [ $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ]	14 - 249	19 - 169
Vitamin B <sub>1</sub> - thiamin [ $\text{mg}/100\text{ g}$ ]	0,38 - 0,59	0,35 - 0,58
Vitamin B <sub>2</sub> - riboflavin [ $\text{mg}/100\text{ g}$ ]	1,70 - 2,92	1,57 - 2,35
Kyselina pantothenová [ $\text{mg}/100\text{ g}$ ]	8,2 - 15,0	7,0 - 14,2
Biotin [ $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ]	8,2 - 15,0	7,0 - 14,2
Niacin [ $\text{mg}/100\text{ g}$ ]	0,76 - 2,03	0,61 - 2,51
Kyselina listová [ $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ]	4,2 - 30,0	14,6 - 59,4
Cholin [ $\text{mg}/100\text{ g}$ ]	62 - 173	60 - 171

(Suková, 2006)

Tabulka 3: Obsah minerálních látek v sladké a kyselé syrovátce

Minerální látka	Koncentrace (g/l)	
	Sladká syrovátka (pH 5,9 – 6,4)	Kyselá syrovátka (pH 4,6 – 4,8)
Vápník	0,04 – 0,06	1,2 – 1,6
Hořčík	0,08	0,11
Fosfát	1,0 – 3,0	2,0 – 4,5
Laktát	1,2 – 1,7	0,2 – 1,0
Citráty	2,0	6,0
Sodík	0,4 – 0,5	0,4 – 0,5
Draslík	1,4 – 1,6	1,4 – 1,6
Chlór	1,0 – 1,2	1,0 – 1,2

(Kilara, 2008)



Tabulka 4: Obsah stopových prvků v syrovátce

Stopové prvky	mg/l
Železo	0,6
Jód	0,5
Měď	0,2
Zinek	1,5

(de Wit, 2001)

Tabulka 5: Průměrný obsah aminokyselin (mg/l) v syrovátce

Syravátka	Volné aminokyseliny		Aminokyseliny v bílkovinách	
	Esenciálních	Celkem	Esenciálních	Celkem
Sladká	51,0	132,7	3,3	6,5
Kyselá	356,0	450,0	2,8	5,6

(Jeličić et al., 2008)

Syravátku lze zařadit do tří hlavních typů (kyselá, středně kyselá a sladká syrovátka). Kyselá syrovátka vzniká při procesu výroby tvarohu po okyselení kyselinou, kdy dochází ke srážení, a kde je pH nižší než 5,1 (Suková, 2006). Kyselá syrovátka má kyselost větší než 0,40 % kyseliny mléčné a pH nižší než 5,0 (Zadow, 2003).

Zadow (2003) popisuje, že kyselost středně kyselé syrovátky se pohybuje okolo hodnot 0,20 - 0,40 % kyseliny mléčné a její pH je zhruba 5,0 - 5,8. Tato třída by měla zahrnovat syrovátku z výroby čerstvého sýra jako je „Ricotta“ nebo „Cottage“ sýr.

Sladká syrovátka má kyselost 0,10 - 0,2 % kyseliny mléčné. Její pH se pohybuje okolo 5,8 - 6,6 (Zadow, 2003). Vzniká při výrobě sýrů, kdy dochází k vysrážení bílkovin pomocí enzymového syřidla chymosinu při pH 5 až 6 (Suková, 2006).

### 3.1.1 Syrovátkové bílkoviny

Syravátková bílkovina je jednou z hlavních bílkovin kravského mléka (Hoffman et Falvo, 2004). Mezi syrovátkové proteiny patří  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -LG),  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -LA), imunoglobuliny (IgG, IgA, IgE, IgM), bovinní sérový albumin (BSA), laktoferin, laktoperoxidasa, glykomakropeptidy. Jejich průměrný obsah v kravském mléce je zaznamenán v Tabulce 6. Syrovátkové bílkoviny jsou převážně termolabilní a svojí strukturou se řadí ke globulárním bílkovinám. Tyto bílkoviny se nacházejí v mléčném séru

po oddělení kaseinu, izoelektrický bod (IEB) je při pH 4,6; teplota 20 °C. Syrovátkové proteiny denaturují při zahřevu nad 60 - 70 °C (Zadrazil, 2002) (Tabulka 7). Tepelná denaturace způsobuje změnu ve struktuře těchto bílkovin, tato změna je nevratná (Oldřichová, 2002). Na syrovátkové bílkoviny nepůsobí například chymosin. Vzhledem k jejich hydrofilní povaze nedojde k vysrážení (Hanušová a Němečková, 2011). Například při použití 50% roztoku nasyceného síranu amonného (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se srážením získá „nerozpustná“ laktoglobulinová a laktalbuminová frakce (Zadrazil, 2002).

Tabulka 6: Průměrný obsah syrovátkových bílkovin v kravském mléce

Komponenta	Koncentrace (g/l)
Syrovátkové bílkoviny z toho:	6,0
β-laktoglobulin	3,2
α-laktalbumin	1,2
Bovinní sérový albumin	0,4
Imunoglobuliny	0,8
Laktoferin	0,2
Laktoperoxidasa	0,03
Enzymy	0,03

(Tunick, 2008)

Tabulka 7: Teploty způsobující denuraci syrovátkových bílkovin

Bílkovina	Denaturační teplota
β-laktoglobulin	61 °C
α-laktalbumin	82 °C
Bovinní sérový albumin	66 °C
Imunoglobulin	72 °C

(Kilara, 2008)

V syrovátce jsou ve vysokém množství obsaženy aminokyseliny s rozvětveným řetězcem tzv. BCAA. Syrovátková bílkovina má vyšší biologickou hodnotu (104) než například sójová bílkovina, která má 74 a je tedy tělem lépe využitelná (Hoffman et Falvo, 2004). Syrovátkové aminokyseliny mají vyšší stravitelnost a vyšší sytivost než aminokyseliny sójového kaseinu, albuminu a vaječného albuminu (Suková, 2011). Existují 3 hlavní formy syrovátkových

bílkovin: syrovátkový koncentrát, izolát a sušená syrovátka (Hoffman et Falvo, 2004). Obsahy bílkovin u jednotlivých forem syrovátkové bílkoviny jsou uvedeny v Tabulce 8.

Syrovátkové bílkoviny mají až o 93 % vyšší stimulaci syntézy svalů než vykazuje kasein a o 18 % vyšší než vykazuje sójová bílkovina (Suková, 2011). Například leucin (BCAA) působí jako signalizační molekula pro zahájení proteosyntézy (Marshall, 2004). Aminokyseliny s rozvětveným řetězcem například valin, ale i isoleucin mají příznivý vliv na látkovou výměnu ve svalech (Suková, 2006, Beránková, 2012).

Tabulka 8: Obsah bílkovin v jednotlivých formách syrovátkové bílkoviny

Forma	Obsah bílkovin %
Sušená syrovátka	11 - 14,5
Syrovátkový koncentrát	25 – 89
Syrovátkový izolát	> 90

(Hoffman et Falvo, 2004)

### 3.1.2 $\beta$ -laktoglobulin

V syrovátkové bílkovině je obsaženo přibližně 50 – 60 %  $\beta$ -laktoglobulinu (Suková, 2006). Zdražil (2002) uvádí, že primární struktura  $\beta$ -laktoglobulinu je složena ze 162 aminokyselin. Molekulová hmotnost této globulární bílkoviny dosahuje 18,227 kDa. Je rozpustný ve zředěných roztocích neutrálně reagujících solí a není rozpustný v čisté vodě. IEB této bílkoviny je při pH 5,12. V mléce je rozpuštěný ve formě koloidního roztoku. Má menší kyselost než má  $\alpha$ -laktalbumin. Neobsahuje významný prvek fosfor a chybí mu aminokyselina hydroxyprolin. Mateřská mléka a mléka hlodavců na rozdíl od kravského mléka  $\beta$ -laktoglobulin neobsahují (Onwulata et Huth, 2008). Vyšší obsah se nachází v nezralém mléce (kolostru), může to být až 8 % z celkových bílkovin. Dále jeho vysoký obsah vykazují mléka masožravců (Zdražil, 2002).  $\beta$ -laktoglobulin je protein, který je schopen vazby na retinol. Hraje významnou a důležitou roli při absorpci a dostupnosti vitamínu A (Solak et Akin, 2012). Dále také obsahuje tři jednotky esenciální aminokyseliny cysteinu. Právě tyto jednotky cysteinu mají nejen vliv na tepelnou stabilitu mléka, ale i na jeho schopnost srážení a nesou odpovědnost za tzv. vařivou příchut' mléka při jeho zpracování. Z hlediska nutriční je cystein pro člověka velmi důležitý, protože patří mezi esenciální aminokyseliny (Madureira et al., 2007). Jednou z významných vlastností této globulární bílkoviny je schopnost vázat molekuly, respektive hydrofobní molekuly.

To v praxi znamená, že je schopen na sebe navázat retinol a poskytovat mu tak patřičnou ochranu před nežádoucí oxidací. Dále se může  $\beta$ -laktoglobulin navázat na lipofilní vitamin  $\beta$ -tokoferol. Tato vazba chrání vitamin před rozkladem a zvyšuje jeho rozpustnost. Těchto významných schopností by se dalo využít při vývoji funkčních potravin (Hanušová a Němečková, 2011).

$\beta$ -laktorfíny jsou skupina takzvaných bioaktivních peptidů a mohou vznikat během enzymového štěpení  $\beta$ -laktoglobulinu. Předpokládá se, že by tyto bioaktivní peptidy mohly být účinné v boji proti vysokému krevnímu tlaku. Podobně jako endorfíny (neurotransmitery) by mohly příznivě působit na biochemické pochody v mozku (Hanušová a Němečková, 2011).

### **3.1.3 $\alpha$ -laktalbumin**

$\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -LA) je jednou z hlavních bílkovin vyskytující se v mateřském, ale i v kravském mléce. Představuje asi 25 % z celkové syrovátkové bílkoviny (Solak et Akin, 2012). Mléka všežravců, masožravců a býložravců s jednoduchým žaludkem jsou označována jako mléka albuminová. Oproti kravskému mléku obsahují mnohem větší množství  $\alpha$ -LA (Zadrazil, 2002). Kravský  $\alpha$ -laktalbumin je ze 76 % identický s lidskou bílkovinou a z 94 % identický s kozí bílkovinou (Zhang et Brew, 2002).  $\alpha$ -LA je zcela syntetizován v mléčné žláze. Zde  $\alpha$ -laktalbumin působí jako koenzym pro biosyntézu laktosy. Obsahuje 123 aminokyselin. Jeho molekulová hmotnost činí 14,175 kDa (Madureira et al., 2007).  $\alpha$ -LA díky vysokému obsahu aminokyselin a to hlavně lysinu, tryptofanu a cysteinu vykazuje velmi vysokou biologickou hodnotu.  $\alpha$ -LA neobsahuje fosfor. Citlivost vůči syřidlovému enzymu zcela chybí. Reakci vykazuje spíše kyselou. Je rozpustný v čisté vodě (Zadrazil, 2002). Má schopnost vázat jeden iont vápníku. Ve chvíli, kdy je iont vápníku navázán, jedná se o velmi termostabilní bílkovinu. Pokud dojde k náhlému snížení pH na hodnotu menší než je 5,0, následuje ztráta vápenatého iontu. Tímto se naopak stává  $\alpha$ -LA velmi náchylným k tepelnému srážení (Hanušová a Němečková, 2011). Jeho IEB je dán rozmezím hodnot pH 4,5 - 5,2. Pro srážení je zapotřebí nejen zahřátí nad 65 °C, ale i současné snížení pH na IEB. K úplnému vysrážení dojde až při teplotě 85 °C (95 °C) (Zadrazil, 2002). V současné době bývá spojován s antimikrobiální, antivirovou činností a imunomodulací. Dále se snižováním stresu a jako určitá prevence nádorového onemocnění (Solak et Akin, 2012).

### **3.1.4 Bovinní sérový albumin**

Bovinní sérový albumin (BSA) se do mléka dostává z krevního séra. Jeho syntéza neprobíhá v mléčné žláze (Madureira et al., 2007). BSA je zhruba z 80 % zodpovědný za koloidní osmotický tlak krve krávy a je zodpovědný za udržování krevního pH (Haggarty, 2002). Jeho struktura je tvořena z 582 aminokyselin a jeho molekulová hmotnost je přibližně 66,267 kDa (Madureira et al., 2007). Izoelektrický bod je při pH 4,8 (Onwulata et Huth, 2008). BSA tvoří asi 8 % syrovátkových a 1,5 % celkových mléčných bílkovin (Hanušová a Němečková, 2011). BSA napomáhá syntéze lipidů, které jsou součástí buněčných membrán, díky své struktuře a velikosti se může vázat na volné mastné kyseliny, lipidy, a další jiné sloučeniny. Je schopen, in vitro, chránit lipidy před nežádoucí oxidací. Při pH 6,5 a po záhřevu dochází ke změně jeho struktury, která vede k tvorbě gelu (Madureira et al., 2007, Hanušová a Němečková, 2011). Předpokládá se, že je BSA schopen inhibovat růst rakovinných buněk (Madureira et al., 2007).

### **3.1.5 Imunoglobuliny**

Imunoglobuliny jsou globulární, kulovité molekuly, které se skládají ze dvou lehkých řetězců s molekulovou hmotností 20,000 - 25,000 kDa a ze dvou těžkých řetězců s molekulovou hmotností 50,000 - 70,000 kDa. Představují asi 2 % z celkových mléčných bílkovin. Imunoglobuliny nejsou syntetizovány v mléčné žláze, přecházejí z krve do mléka (Kilara, 2008). Jejich izoelektrický bod se pohybuje v rozmezí hodnot pH 4,6 – 6,0 (Onwulata et Huth, 2008). Existuje celkem pět tříd těchto globulárních molekul (Solak et Akin, 2012), ale v mléce jsou nalezeny pouze třídy čtyři: IgG1, IgG2, IgA a IgM (Kilara, 2008). IgG představuje zhruba 75 % protilátek u dospělých jedinců. Imunoglobuliny jsou vylučovány do mateřského mléka, čímž teleti, poskytují ochranu před infekcemi, poskytují mu tzv. pasivní imunitu (Marshall, 2004). Tato ochrana obecně trvá do té chvíle, než je zvíře schopno samostatně vytvářet protilátky (Kilara, 2008). Mlezivo (kolostrum) obsahuje výrazně vyšší koncentrace imunoglobulinů než zralé mléko. Maximální koncentrace je dosaženo během prvních 24 až 48 hodin po porodu. Bylo zjištěno, že imunoglobuliny vytváří 10 – 15 % celkových syrovátkových bílkovin získaných z kravského mléka v koncentracích 0,6 - 0,9 mg/ml (Marshall, 2004). Významný terapeutický účinek se předpokládá u imunoglobulinů mléčného původu. Mohly být účinné v terapii dětských infekcí, které jsou způsobeny rotaviry a to 1., 2., a 3. Typu. Mléko obohacené o imunoglobuliny, by mohlo

sloužit jako prevence proti vysoké hladině cholesterolu v krvi. (Hanušová a Němečková, 2011).

### **3.1.6 Laktoferin**

Laktoferin (lactoferrin, bioaktivní látka) je významnou složkou syrovátky. Je složen přibližně z 689 aminokyselinových zbytků. Zatímco lidský laktoferin je složen z 691 aminokyselinových zbytků (Marshall, 2004). Přirozeně se vyskytuje v mateřském mléce (Solak et Akin, 2012). Jedná se železo vázající glykoprotein o molekulové hmotnosti 80,000 kDa (Madureira et al., 2007) a je tvořen jedním polypeptidickým řetězcem se dvěma vazebnými místy pro železité ionty (Marshall, 2004). Má schopnost transportovat železo (Suková, 2006), působí antivirově, antibakteriálně, má imunomodulační a antioxidační účinky, podporuje růst střevních bakterií. Dále jsou této bioaktivní látce připisovány protinádorové účinky (Solak et Akin, 2012). V žaludku probíhá štěpení lactoferinu za vzniku laktofericinu B (peptid). Tento peptid se vyznačuje schopností potlačovat plísně, kvasinky a celkově patogenní bakterie, naproti tomu má jen velmi zanedbatelný vliv na bifidobakterie, což je žádoucí (Hanušová a Němečková, 2011).

### **3.1.7 Laktoperoxidasa**

Enzym laktoperoxidasa představuje 0,25 - 0,50 % z celkových bílkovin nalezených v syrovátce (Solak et Akin, 2012). Marshall (2004) uvádí, že jeho účinky jsou spojeny se schopností katalyzovat peroxidaci thiokyanatanu a některých halogenidů (jód a brom) a se schopností katalyzovat redukci peroxidu vodíku. Má antimikrobiální vlastnosti. Používá se jako přísada do výrobku pro zubní hygienu (Solak et Akin, 2012).

### **3.1.8 Glykomakropeptid**

Glykomakropeptid obecně spadá do skupiny glykopeptidů. Někdy bývá označován pod názvem kaseinomakropeptid. Tento peptid je obsažen pouze ve sladké syrovátce. Vznik tohoto glykopeptidu je podmíněn specifickým štěpením za výrazné pomoci chymosinu z kappa-kaseinu (Hanušová a Němečková, 2011). Vzhledem k obsahu kyseliny N-acetylneuraminové je kaseinomakropeptid výborným prebiotikem pro střevní bifidobakterie. Některé výzkumy uvádějí, že kaseinomakropeptid má schopnost se navázat na cholera-toxin, který produkuje *Vibrio cholera*. Tímto navázáním by mohlo dojít k zabránění působení tohoto toxinu na organismus (Hanušová a Němečková, 2011). Vzhledem k tomu, že ve své struktuře

neobsahuje fenylalanin je vhodný pro pacienty s onemocněním zvaným fenylketonurie (Solak et Akin, 2012).

### **3.1.9 Proteoso-peptony**

Proteoso-peptony představují zhruba 10 % z celkových bílkovin nalezených v syrovátce (Buccioni et al., 2013). Patří mezi tepelně stabilní bílkoviny, rozpustné v kyselinách (Innocente et al., 2002). Izoelektrický bod proteoso-peptonů je při pH 3,7 (Onwulata et Huth, 2008). Patří k bílkovinám, které zůstávají v roztoku mléka po zahřátí na 95 °C po dobu 20 minut, které se pak okyselí na pH 4,7 12% kyselinou trichloroctovou. Během této frakce se mohou vytvářet minoritní a 3 hlavní proteovo-peptonové komponenty (komponenta 3, 5, 8) (Kilara, 2008).

### **3.2 Syrovátka a její výživově-fyziologický význam**

Syrovátka je dnes nabízena jako funkční potravina s řadou zdravotních a nutričních výhod. Výzkumy ukazují, že proteiny s vysokým obsahem esenciálních aminokyselin, rozvětvených (BCAA) aminokyselin, a to zejména leucin, jsou spojeny se snížením plasmatického insulinu triglyceridového profilu, se zvýšenou syntézou svalové bílkoviny, ztrátou hmotnosti při redukční dietě a ztrátou tělesného tuku (Etzel, 2004). Syrovátce je dále připisován výrazný antioxidační účinek, protože je bohatá na proteiny obsahující cystin (disulfidová forma cysteinu), který napomáhá syntéze glutathionu (silný intracelulární antioxidant) (Marshall, 2004). Suková (2006) také uvádí, že syrovátkové proteiny mohou stimulovat produkci glutathionu ve tkáních, a tak vytvářet zásoby svalového glutaminu (neesenciální biogenní aminokyselina), který hraje významnou roli v imunitním systému. Mimo jiné by mohla mít syrovátka celkově kladný vliv na činnost ledvin, střev a střevní mikroflóru. Dále by mohla příznivě ovlivňovat hladinu cholesterolu v krvi a mít celkově pozitivní vliv na náš metabolismus. Klinické výzkumy uvádějí, že by se syrovátkové bílkoviny mohly uplatnit jako inhibitory růstu rakovinných buněk. Vědečtí pracovníci provádějící klinické výzkumy v Arkansaském výzkumném institutu předpokládají, že by se syrovátka, stejně jako sója mohla uplatňovat v prevenci rakoviny prsu. Dokonce se předpokládá, že by syrovátkové bílkoviny mohly chránit zdravé buňky po dobu chemoterapeutické léčby rakoviny. Pacienti, kteří podstupují léčbu rakoviny (ozařování a chemoterapii), často trpí nechutenstvím a nauseou. Tito pacienti mohou trpět silným deficitem proteinů a mnohdy mají značně velké problémy s dosažením doporučené denní dávky živin obecně. Společnost (NEXTProteins)

zaměřená na výrobu syrovátkových proteinových koncentrátů, uvádí, že je syrovátka pro tyto pacienty dobrým zdrojem bílkovin. Nejenže je lehce stravitelná, ale má i pozitivní vliv na zažívací trakt, protože ho zbytečně tolik nezatěžuje (Kopáčová, 2001). Dále byly popsány antimikrobiální účinky u laktoferinu, laktoperoxidasy, lysozymu, imunoglobulinů a glykomakropeptidu. Laktoferinu je připisována schopnost silné interakce s povrchem buněčných stěn gramnegativních bakterií. Díky této interakci může následně dojít k rozpuštění lipopolysacharidů. Poté dojde k narušení osmotické rovnováhy a v důsledku toho jsou bakterie zničeny. Lactoferrin je mimo jiné schopen inhibovat intracelulární invazi patogenů, a tím ochraňovat buňky epitelu před infekcí způsobenou mikroorganismy. V kombinaci s lysozymem by mohl být účinek této bioaktivní látky ještě zesílen. Vědci se domnívají, že by mohl chránit i před virovými infekcemi jako je rotavirová gastroenteritida, herpes, chřipka, ale i hepatitida (Suková, 2011).

Laktosa je z nutričního hlediska především zdrojem energie, má schopnost podporovat a stimulovat střevní peristaltiku, podporovat absorpci vápníku a fosforu, zajišťovat optimální množství hořčičku a přispívat k lepšímu trávení tuků a dalších živin v těle. Nehromadí se v játrech a má nízký glykemický index. Nepodílí se na rozvoji zubního plaku (Tratnik, 2003, Bohačenko a kol., 2007).

### **3.3 Povrchově aktivní a funkční vlastnosti bílkovin**

#### **3.3.1 Povrchově aktivní vlastnosti**

Syrovátkové bílkoviny lze využívat ke stabilizaci emulzí nebo pěn či jako emulgátory do některých potravinářských výrobků. Jejich významnou vlastností je schopnost vázat jak hydrofobní, tak i hydrofilní látky a hromadit se na fázovém rozhraní, jako je například voda/olej, čímž se sníží povrchové napětí. Účinnosti klesá v následujícím pořadí: hovězí sérový albumin >  $\alpha$ -laktalbumin >  $\beta$ -laktoglobulin (Hanušová a Němečková, 2011).

#### **3.3.2 Funkční vlastnosti bílkovin**

Mezi funkční vlastnosti těchto bílkovin patří schopnost emulgovat, pěnit a tvořit gely. Dále se vyznačují dobrou rozpustností a viskozitou. Rozpustnost syrovátkových bílkovin je ovlivněna nejen teplotou, ale i pH a přítomností jiných iontů (Kilara, 2008). Rozpustnost syrovátkových bílkovin klesá s teplotou nad 70 °C. Naopak se u bílkovin během denaturace zvyšuje schopnost vázat vodu (Onwulata et Huth, 2008). Jejich rozpustnost ovšem klesá



i při vysokých koncentracích solí (O'Regan et al., 2009). Další významnou vlastností je interakce proteinů s vodou, která vede k zahušťování a ke zvýšení viskozity. Denaturovaná syrovátková bílkovina váže více vody než nativní, nedenaturovaná. S teplotou nad 65 °C se zvyšuje viskozita syrovátkové bílkoviny a ještě většího zvýšení lze docílit při teplotách okolo 85 °C (Kilara, 2008).

Předpokladem pro napěnění je zahřívání nebo zvýšená teplota (55 – 60 °C), kterou působíme na syrovátkové bílkoviny. Pasterací se snižují pěnotvorné schopnosti syrovátky (Kilara, 2008).

Emulgování je chování bílkoviny v rozhraní olej - voda. Emulze jsou tvořeny za aplikace energie, která je použita na rozptýlení jedné fáze do druhé (Kilara, 2008).

Během zahřívání (denaturace) dochází k rozvinutí bílkovinného řetězce a tím k tvorbě gelů ze syrovátkových bílkovin. Následně jsou tak proteiny schopné účastnit se interakcí bílkovina - bílkovina nebo bílkovina - voda, což vede k vytvoření trojrozměrné sítě. Tato trojrozměrná síť se vyznačuje schopností zadržet velké množství vody. „Heat - set“ gely, jsou gely vytvořené za horka. Tak zvané „cold - set“ gely, jsou gely vytvořené naopak za studena. Výrobní technologie zahrnuje zahřátí suroviny na určitou teplotu. Poté následuje ochlazení a například přidavek glukonodeltalaktonu (O'Regan et al., 2009, Hanušová a Němečková, 2011).

Foegeding et Juck (2002) ve své práci též uvádějí, že funkční vlastnosti syrovátkových bílkovin lze změnit enzymatickou hydrolýzou. Obecně platí, že čím vyšší byl stupeň hydrolýzy použit, tím vznikal produkt, který byl více tepelně stabilní a vyvolával menší alergické vlastnosti než produkt s nižším stupněm hydrolýzy. Enzymatická hydrolýza u syrovátkových bílkovin navíc přispívala ke zvýšení jejich rozpustnosti ve vodě (Spälätelu, 2012).

### **3.4 Technologické operace při zpracování syrovátky**

Předběžná úprava syrovátky musí zahrnovat čištění, odstranění tuků a pasteraci. Čištění se provádí z důvodů odstranění nežádoucích zbytků sraženiny - sýrašského prachu, který by mohl mít negativní vliv na průběh dalších procesů. Většinou se používají kombinace scezování, usazování a odstředování. Pro zachování mikrobiologické a chemické jakosti syrovátky je velmi důležitá pasterace. Obvykle probíhá při teplotě 72 – 78 °C po dobu

15 – 20 s. Někdy se využívají teploty v rozmezí 62 – 85 °C. Tím se inaktivuje chymosin a fosfatasa a sníží se počet živých mikroorganismů (Suková, 2006).

Demineralizace je proces, při kterém dochází k odstranění solí ze syrovátky (Burling, 2002). Odstranění minerálů lze provádět iontovou výměnou, nanofiltrací nebo i elektrodialýzou (Kilara, 2008).

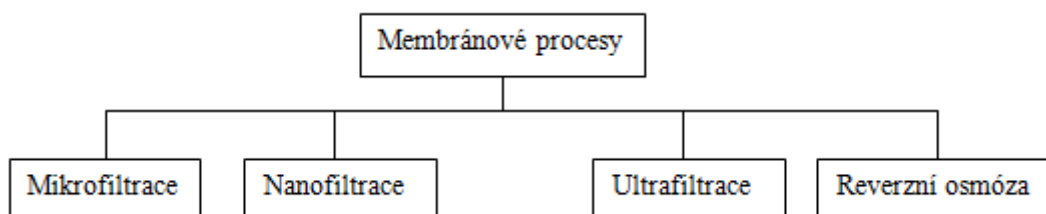
### 3.4.1 Separace jednotlivých složek syrovátky

Pomocí moderních technologických procesů lze oddělovat jednotlivé složky syrovátky, kterými jsou například bílkoviny, tuk, sůl, laktosa a další. Elektrodialýza je proces, při kterém dochází k oddělování solí. Tento proces probíhá přenosem iontů přes neselektivní semipermeabilní membrány, ve kterých je hnací silou stejnosměrný proud (Burling, 2002). Iontoexchange procesy nám umožňují od sebe oddělit biologicky aktivní vysokomolekulární a nízkomolekulární látky (Melzoch, 2012). Například gelová chromatografie je proces, při kterém dochází k oddělení molekul na základě jejich rozdílné velikosti (Stanton, 2004). Nejprve kolonou procházejí velké molekuly, zatímco nízkomolekulární látky jsou v koloně zadržovány nejdéle, protože pronikají hlouběji do pórů stacionární fáze (Melzoch, 2012). Principem tohoto procesu je rozdílná difuzní rychlost molekul o různé velikosti přes sloupec naplněný porézními, pryskyřičnými, kulovitými částicemi (de Wit, 2001).

### 3.4.2 Membránové procesy

Membránové procesy (Obrázek 1) zahrnují technologie mikrofiltrace, nanofiltrace, ultrafiltrace a reverzní osmóza viz Tabulka 9 (Tunick, 2008). Tyto technologie jsou většinou využívány k výrobě bílkovinných koncentrátů a izolátů (Suková, 2006).

Obrázek 1: Schéma membránových procesů



Tabulka 9: Typy membránových separací

Typ	Velikost pórů (nm)	Zadržené komponenty	Molekulární hmotnost komponentů (kDa)
Mikrofiltrace	20 - 4,000	Bakterie, kaseinové micely, tukové kuličky	100 - 500
Ultrafiltrace	20 - 200	Syrovátkové bílkoviny	1 - 100
Nanofiltrace	< 2	Laktosa	0,1 - 1
Reverzní osmóza	< 2	Ionty	< 0,1

(Tunick, 2008)

### 3.5 Komerčně dostupné syrovátkové produkty

Pokroky v technologii zpracování syrovátky vedly k vývoji několika komerčně dostupných syrovátkových výrobků jako je sušená syrovátka, syrovátkový bílkovinný koncentrát (WPC), syrovátkový izolát (WPI), demineralizovaná syrovátka, hydrolyzovaná syrovátková bílkovina (WPH) a syrovátkový permeát (WP). Každý jednotlivý syrovátkový produkt se liší v obsahu bílkovin, sacharidů, imunoglobulinů, minerálních látek, ale i v obsahu tuku (Marshall, 2004). Sušená syrovátka obsahuje 52 – 58 % laktosy, 18 – 24 % bílkovin, 11 – 22 % popela, 1 – 4 % tuku a její vlhkost dosahuje hodnoty 3 až 4 % (Kilara, 2008). Demineralizovaná syrovátka obsahuje zhruba 76,8 % laktosy, 2,2 % tuku, 13,0 % bílkovin a 4 % popelovin. Vlhkost tohoto výrobku je přibližně 4 % (Chandan, 2008). Marshall (2004) ve své práci uvádí, že obsah bílkovin v syrovátkovém bílkovinném koncentrátu se pohybuje od 25 % do 89 %. Zadow, (2003) uvádí, že například 65% WPC má přibližný obsah bílkovin 63,0 %, 21,1 % laktosy, 5,6 % tuku, 3,9 % popelovin a 4,2 % vlhkost. Čím je vyšší obsah bílkovin, tím se snižuje obsah tuku, laktosy a minerálních látek. WPI obsahuje 90,0 % a více bílkovin, 4,0 - 5,5 % vody, 4,5 – 6 % popelovin a 0,4 – 1,0 % tuku. Obsah laktosy je v průměru 0,6 - 2,0 % (Foegeding et Juck, 2002). Hydrolyzát syrovátkových bílkovin (WPH, hydrolyzed whey protein) obsahuje zhruba 90 % bílkovin, ale koncentrace bílkovin může být proměnlivá. (Solak et Akin, 2012). Syrovátkový permeát (WP, whey permeate) je vedlejší produkt získaný ze syrovátky. Obsahuje především vodu (93 %), laktosu (5 %), bílkovin (0,85 %), minerální látky (0,53 %), velmi malé množství tuku (0,36 %) (Beucler et al., 2005).

### 3.6 Historie a současnost alkoholických nápojů

Alkohol, ethanol je nejstarší a nejvíce lidmi užívanou psychoaktivní látkou na světě. Má nejen vliv na náladu, ale i celkovou psychiku člověka (Rokyta, 2013). Alkoholické nápoje jsou lidstvu známy již odnepaměti. Například archeologické nálezy nám dokládají, že víno bylo vyráběno už před 7000 lety (Sandorová a kol., 2006). Dokonce i pivo, má svůj rodokmen, který sahá hluboko do historie lidstva. Před 6000 až 8000 lety, na území bývalé říše Sumerů, byly nalezeny receptury na výrobu a přípravu piva. Byla též nalezena tak zvaná chmelová listina, kterou v roce 1320 vydal král Jan Lucemburský. Tato listina předznamenávala pivní historii (Berka a Průcha, 2013). Ovšem za kolébku piva je považována Mezopotámie. V Mezopotámii se pivo vyrábělo již 7000 př. n. l. (Hajar, 2000, Štěpničková, 2009). Obvyklá výroba alkoholu byla z dostupných surovin a z různých přírodních zdrojů, které se právě nacházely na daném místě nebo území. Tehdejší pivo se od našeho současného pivního moku dost lišilo. Pravděpodobně se do něho přidávaly různé byliny a nebylo syceno oxidem uhličitým. Obsah alkoholu v tehdejším pivu značně kolísal. Záleželo na způsobu přípravy. Podle archeologických nálezů, lze konstatovat, že například Sumerové konzumovali pivo z hliněných džbánů. Aby se znásobily alkoholické účinky tohoto nápoje, používala se během popíjení pivního moku slámka. Do Evropy se znalost o vaření piva nejspíše rozšířila z Egypta. Nejstarší ověřené důkazy o přípravě a výrobě piva v blízkosti našeho území pocházejí z doby asi 800 let před naším letopočtem a to z Bavorska. Ve 4. století před naším letopočtem Římané a Keltové seznámili obyvatele Britských ostrovů s vařením piva. Keltové tuto znalost rozšířili až do střední a západní Evropy. U Germánů se pivo těšilo takové oblibě, že byli schopni na výrobu pivního moku obětovat dokonce celou úrodu a pak umírali hladu. Na základě toho musela církev a šlechta omezit množství obilí na jeho výrobu (Hasík, 2013). První pivo bylo nechmelené. Egypťané, ale i Sumerové vařili pivo z obilného sladu nebo chlebového těsta. Chmel se záměrně začal pěstovat v období Franské říše za vlády Pipina Krátkého (rok 751 – 768) (Štěpničková, 2009).

K výrobě alkoholických nápojů se snad nejvíce přiblížili Aztékové. Aztékové vyráběli ze šťávy agáve opojný nápoj, který využívali k náboženským účelům. Tento alkoholický nápoj způsoboval euforické stavy a zmatení mysli, které Indiáni připisovali komunikaci s božstvy. Tento nápoj se směl konzumovat jen při obřadech a rituálech. V současné době se takový alkoholický nápoj připravený z agáve nazývá tequila (Štěpničková, 2009). Pulque je též tradiční mexický fermentovaný nápoj, který je vyroben z mízy aguamiel, která je extrahována z různých druhů agáve (sukulentní rostlina) (Escalante et al., 2004).

Až do počátku 20. století a nástupu moderního lékařství se alkohol často používal jako lék, desinfekce, anestetikum a analgetikum (Hajar, 2000, Sandorová a kol., 2006, Rokyta, 2013). I samotní Řekové využívali víno a ocet v péči o rány (Hajar, 2000). První čistý alkohol byl získán na jihu Itálie už v 11. století našeho letopočtu. Svědectví o blahodárných účincích alkoholu najdeme například v pracích antického lékaře Hippokrata (460-370 př. n. l.) a filozofa - lékaře Ibn síny (980 – 1037) (Sandorová a kol., 2006, Štěpničková, 2009). Římané a Řekové dávali přednost pití vína, nejen proto, že se na jejich území vinné révě více dařilo, ale protože víno obsahovalo zdraví prospěšnou látku resveratrol, která zaručovala ochranu proti infekci (Hasík, 2013). Víno se používalo ke snížení horeček, při ošetřování ran, pilo se zředěné místo vody, jako prevence střevních onemocnění a také se s ním snažili zabránit morovým ranám. V Hamburku v roce 1892 využívali víno k sterilizaci vody jako prevenci cholery (Šamánek a Urbanová, 2011). Nejstarší doklady o pěstování vinné révy pochází z pozdní doby kamenné a počátku doby bronzové v Jordánské nížině. Na našem území se vinná réva pěstovala v době Keltů a Germánů. Na Slovensku a na Moravě se vinohrady udržely po celou dobu, ale v Čechách zanikly s příchodem Slovanů, protože pili hlavně pivo, medovinu a kumys (Štěpničková, 2009, Šamánek a Urbanová, 2011). Ve slovanských Čechách došlo k obnovení pití vína až v roce 892, když kníže Svatopluk poslal českému knížeti Bořivojovi soudek s vínem. Na základě tohoto činu, Ludmila, jeho žena, začala prosazovat pěstování vinné révy (Šamánek a Urbanová, 2011). Původní křesťanství a šlechta, zaujímala k vínu velmi kladný postoj, byl to obyčejný nápoj všedního dne (Štěpničková, 2009).

Vedle vinné révy a obilí se také objevily mléčné kvašené nápoje s nízkým obsahem ethanolu. Například zkvašené kobyli mléko neboli kumys patří k tradičnímu a posvátnému nápoji Kyrgyzů v Kyrgyzstánu (Kokaisl, 2006). Tradiční fermentovaný mléčný nápoj Středního východu a Kavkazu je kefir, který je vyráběn z kozího nebo kravského mléka (Ot-es et Cagindy, 2003, Suková, 2004). Někteří vědci se domnívají, že kefir má svůj původ z horských oblastí Kavkazu. Podle legendy ho původní obyvatelé dostali od proroka Mohameda (Gaware et al., 2011). Název kefir pravděpodobně pochází z tureckého slova kefy nebo keif a v překladu to znamená štěstí nebo uspokojení (Pogačić et al., 2013).

Historie výroby kvašených alkoholických nápojů v Evropě sahá do období starověku asi 5000 let před naším letopočtem a lze zde nalézt určitou spojitost s výrobou keramických nádob. Umění vyrábět fermentované nápoje se stále zdokonalovalo a vyvíjelo díky empirickému

rozpoznání důležitých faktorů ovlivňujících jejich senzorní vlastnosti (Urban a Syrovátka, 2014).

### **3.6.1 Alkohol v České Republice**

Alkohol, jako všeobecně tolerovaná droga, bývá na rozdíl od ostatních návykových látek skoro ve všech zemích světa legální a v obchodních řetězcích bývá velmi snadno dostupný (Sandorová a kol., 2006). Popov (2003) uvádí, že Česká republika, v celosvětovém žebříčku, patří mezi státy s nejvyšší spotřebou alkoholických nápojů a celkově alkoholu. V konzumaci piva jsme dokonce na prvním místě. Spotřeba piva na obyvatele se za rok pohybuje okolo 160 litrů. Také spotřeba destilátů se pohybuje okolo 8 litrů na osobu za rok. V roce 2006 Hana Sovinová přeložila do české verze zprávu, pro Evropskou unii, kterou napsali Anderson, P., a Baumberg, B. Tato zpráva neboli souhrn mimo jiné obsahuje téma, které se týká konzumace alkoholu v Evropě. Tato zpráva uvádí, že Evropská unie je regionem s nejvyšší spotřebou alkoholu na světě. Ovšem existují výrazné rozdíly v konzumaci alkoholických nápojů ve státech EU. Při zohlednění skutečnosti, že 55 milionů dospělých, Evropanů, alkohol vůbec nepije i tak dosahuje jeho spotřeba na 15 litrů za rok na osobu. Dalo by se říci, že skoro polovina tohoto množství konzumovaného alkoholu je ve formě piva (44 %) a zbylé množství je rozděleno mezi víno (34 %) a destiláty (23 %) (Sovinová, 2006). V roce 2009 podle Světové zdravotnické organizace (WHO) a Evropské komise byla spotřeba v České republice vyčíslena na 16,61 litru čistého alkoholu na dospělé osobu (obyvatele) za rok. Touto vysokou spotřebou se ČR umístila na prvním místě mezi zeměmi Evropské unie (Csémy et Winkler, 2013). V letech 1989 až 2012 sledoval Český statistický úřad (ČSÚ) spotřebu alkoholických nápojů v České republice. Tato spotřeba je zaznamenána v Tabulce 10 (ČSÚ, 2013).

Tabulka 10: Spotřeba alkoholu v České republice v letech 1989 – 2012 na osobu za rok.

Rok	Alkoholické nápoje celkem (měřicí jednotka – litr)	Lihoviny (40%) (měřicí jednotka – litr)	Víno (měřicí jednotka – litr)	Pivo (měřicí jednotka – litr)
1989	170,8	6,3	13,5	151,0
1990	177,2	7,2	14,8	155,2
1991	169,9	8,2	14,8	146,9
1992	186,3	8,0	15,0	163,3
1993	176,7	7,8	15,3	153,6
1994	180,0	7,9	15,4	156,7
1995	180,2	7,9	15,4	156,9
1996	181,1	8,0	15,8	157,3
1997	185,6	8,3	15,9	161,4
1998	185,3	8,2	16,0	161,1
1999	184,2	8,3	16,1	159,8
2000	184,3	8,3	16,1	159,9
2001	181,3	8,2	16,2	156,9
2002	184,4	8,3	16,2	159,9
2003	186,4	8,4	16,3	161,7
2004	184,6	7,6	16,5	160,5
2005	188,1	7,8	16,8	163,5
2006	184,3	8,0	17,2	159,1
2007	185,8	8,2	18,5	159,1
2008	183,2	8,1	18,5	156,6
2009	177,6	8,2	18,7	150,7
2010	170,9	7,0	19,4	144,4
2011	168,8	6,9	19,4	142,5
2012	175,2	6,7	19,8	148,6

(ČSÚ, 2013)

### 3.6.1.1 Nadměrná konzumace alkoholu

Pravidelná a nadměrná konzumace se u nás, v České Republice, týká asi 25 % dospělé mužské populace a 5 % žen. Některé zahraniční studie nás upozorňují na skutečnost, že při pravidelné konzumaci vyšších dávek alkoholu zhruba nad 20 g (pro ženy platí nižší dávky) dochází k výskytu zdravotních potíží (Popov, 2003). Tolerovaná denní dávka pro muže, v ČR, je zhruba 20 g alkoholu, to je přibližně 250 ml vína, 0,5 l piva nebo 60 ml lihoviny. U žen je tolerovaná denní dávka alkoholu nižší, je to asi 10 g což představuje 125 ml vína, 0,3 l piva a 40 ml lihoviny (Dostálová a kol., 2012). Nejrizikovější skupinou jsou mladiství, ti mají nejvyšší riziko vzniku závislosti a poškození organismu (Zima, 2011). Světová zdravotnická organizace v roce 2011 přišla s vědeckými poznatky o zdravotních dopadech škodlivého a rizikového pití. Až 4 % roční světové úmrtnosti má na svědomí alkohol. Nejčastěji se jedná o úmrtí v důsledku nádorových onemocnění (rakovina prsu, dutiny ústní, hltanu, hrtanu, jícnu, tlustého střeva, recta a jater), kardiovaskulárních chorob a onemocnění jater (cirhóza jater). V roce 2005 bylo evidováno 320 000 úmrtí ve věkové skupině 15 až 29 let, což je asi 9 % roční mortality (Csémy et Winkler, 2013, O'Keefe et al., 2014). Nadměrná spotřeba alkoholu má vliv i na imunitní systém, svalstvo a celkově na nervový systém. Jak už bylo řečeno výše pouze nízká dávka ethanolu denně, zhruba 20 g, snad nevyvolává poškození organismu (Zima, 2011). Největším problémem je, že nejde přesně stanovit bezpečná hranice konzumace alkoholu, která by s určitou jistotou bránila vzniku alkoholismu (Berka a Průcha, 2013).

### 3.6.2 Alkohol a jeho nutriční aspekty

Ethanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ , ethylalkohol, líh) představuje určitý zdroj energie (Tabulka 11), který organismus nedovede a nemůže účinně využít. Na druhou stranu alkoholické nápoje obsahují řadu látek, které naopak organismus umí využít (Zima, 2011). Například pivo obsahuje až 3000 různých sloučenin. Z toho asi u 1000 složek byla stanovena chemická identita a zhruba 600 látek je senzorycky aktivní. Pivo je výborným zdrojem vody, minerálních látek (draslík, hořčík a fosfor), vitaminů (thiamin, riboflavin, pyridoxin, niacin, kyselina pantotenová, biotin a kyselina listová), aminokyselin, sacharidů, polysacharidů, polyfenolových látek, ale i vlákniny (Berka a Průcha, 2013). Obsažená kyselina listová působí proti zvýšení hladiny homocysteinu v krvi (Stránský, 2011, Berka a Průcha, 2013). Zvýšená koncentrace homocysteinu v krvi je považována za jeden z rizikových faktorů pro vznik cévních mozkových příhod a kardiovaskulárních chorob (Selhub, 2006). Pivo dokáže nejen



uhasit pocit žízně, ale má i uklidňující účinek, který je dán vlivem hořkých látek a alkoholu. Přítomnost aromatických látek slouží k uspokojení chuťových požitků. Pivo má diuretické, estrogenní účinky a má schopnost stimulovat chuť k jídlu. Oxid uhličitý, který je přirozenou součástí piva má vliv nejen na osvěžení konzumenta, ale i na prokrvení sliznic trávicího traktu. Prokrvení trávicího traktu má pozitivní vliv na vstřebávání a celkový metabolismus všech živin v organismu (Berka a Průcha, 2013). Pivo obsahuje nejen zdraví prospěšné látky, ale bohužel i látky, které jsou zdraví škodlivé (Tabulka 12).

Tabulka 11: Obsah ethanolu a jeho energetická hodnota u vybraných nápojů

Nápoj	Ethanol (% obj.)	Energetická hodnota (kcal/100 ml)
Pivo 10°	4,1	37
Pivo 11°	4,6	41
Pivo 12°	5,0	44
Víno	12,0	77
Destiláty	40,0	250
Tonic	-	39
Slazená minerálka	-	35
Slazený čaj	-	35
Pomerančový džus	-	42
Plnotučné mléko	-	64
Syrovátka	-	35,85
Syrovátka sušená	-	339

(Berka a Průcha, 2013, Kalorické tabulky, 2014).

Tabulka 12: Zdraví prospěšné a zdraví škodlivé látky obsažené v pivu.

Zdraví prospěšné	Zdraví škodlivé
Vitaminy	Biogenní aminy
Minerální látky	Alkoholy a aldehydy
Organické kyseliny	Těžké kovy
Sacharidy	Dusičnany a dusitany
Hořké látky chmele	Mykotoxiny
Vláknina	Rezidua pesticidů, herbicidů a fungicidů
Oxid uhličitý	Oxid uhličitý
Fenolové látky	N – nitrosaminy
Bílkoviny	3,4 – benzpyren
Polypeptidy	Ethylkarbamát
Aminokyseliny	Heterocyklické aromatické aminy

(Dostálová a kol., 2009).

V lékařské literatuře a vědeckých pracích se často uvádí, že alkoholické nápoje (víno, pivo) pozitivně působí na srdečně cévní systém vlivem snížení rizika aterosklerózy (ukládání tukových částic ve vnitřních stěnách tepen). Dochází k příznivému ovlivnění poměru HDL (lipoproteinů o vysoké hustotě) k LDL (lipoproteinů o nízké hustotě). Dále dochází ke snížení srážlivosti krevních destiček (trombocytů), protože se aktivuje látka zvaná plazminogen, která rozpouští krevní sraženiny (Šamánek a Urbanová, 2011, Berka a Průcha, 2013). Americká kardiologická společnost (ACA) se vyjádřila ohledně konzumace alkoholických nápojů, tak že nízké dávky alkoholu a mírné pití alkoholických nápojů nijak významně nepřispívají k morbiditě, ale nadměrná spotřeba alkoholu je naopak spojena s kardiomyopatií, mozkovými cévními příhodami, hypertenzí a hypertriglyceridemií. Kadaňka (2013) ve svém vědeckém článku konstatuje, že konzumace vína pro jeho antioxidační aktivitu a jiné vlastnosti je neprokázaná strategie. Čerstvá zelenina, ovoce a nealkoholické nápoje (citrusy) mohou mít potenciálně podobný antioxidační efekt jako červené víno, pokud předpokládáme podstatu jeho vlivu v obsahu zdraví prospěšných látek polyfenolů. Naopak Šamánek a Urbanová (2011) ve svém článku poukazují, že existuje prokazatelný příznivý účinek vína. Dokonce se domnívají, že nositelem tohoto účinku nejsou samotné polyfenoly, resveratrol, ale i alkohol - ethanol. Hlavním, rozhodujícím faktorem v příznivém účinku vína je vzestup HDL – cholesterolu. K vzestupu HDL – cholesterolu dochází inhibicí cholesterol ester transportního

proteinu (CETP). Dále dochází ke snížení hladiny fibrinogenu a ke snížení aktivity a zabraňování shlukování krevních destiček, trombocytů (Šamánek a Urbanová, 2011). Někteří vědečtí pracovníci se též domnívají, že hlavní účinnou složkou alkoholických nápojů je ethanol (Mukamal et al., 2005., Krenz et al., 2012, O'Keefe et al., 2014). Táborský a kol. (2010) zastává názor, že pití vína je tisíciletími prověřená záležitost a že není dobré pít častěji než 5 dní v týdnu. Pití vína doporučuje jen zdravým lidem a to v nízkých dávkách. O'Keefe et al. (2014) ve své práci zveřejňují, že byla provedena metaanalýza, která zahrnovala 1 milion jedinců. Tato metaanalýza se týkala účinků alkoholu (ethanolu) na zdraví člověka. V závěru došli k výsledku, že nízká a mírná konzumace alkoholu (max. 1 drink denně žena, max. 1 – 2 drinky denně muž) byla spojena s nižší morbiditou celkově (O'Keefe et al., 2014). Jeden drink zhruba představuje 15 g alkoholu, to je například 148 ml vína, 355 ml piva a 44 ml destiláty (Kadaňka, 2013).

### **3.6.3 Metabolismus alkoholu**

90 % alkoholu se vstřebává velmi rychle, zhruba za 30 – 60 minut. Alkohol je absorbován žaludkem (pasivní difuze) a tenkým střevem v nezměněné podobě. Dokonce dochází i ke vstřebání přes kůži. Rychle se distribuuje do všech tělních tekutin a orgánů. Rychlejší absorpce bývá nalačno. Absorpci alkoholu může zpomalit například požití jídlo (hlavně tuky), snížená pohyblivost (motilita) střev, léky, věk, vysoká koncentrace a velké množství požitého alkoholu a nemoci zažívacího traktu (Norberg et al., 2003, Zakhari, 2006, Kresánek a kol., 2009).

V lidském organismu jsou známy čtyři metabolické cesty ethanolu (Obrázek 2) a to alkoholdehydrogenasa (ADH), mikrosomální ethanolový oxidační systém (MEOS), mikrosomální katalasa a neoxidativní metabolismus. Tyto specifické enzymové systémy dokážou odstranit až 90 – 98 % alkoholu z lidského organismu. A zbylé množství ethanolu se beze změny vyloučí pomocí dechu, potu a moči (Zima, 2011). Převážná většina ethanolu je metabolizována v játrech (v cytosolu hepatocytů) pomocí enzymu alkoholdehydrogenasy (Norberg et al., 2003, Zakhari, 2006). V poslední době je připisována aktivita ADH enzymu i žaludku (Moreno et Pare's, 1991, Lieber, 2005). ADH enzym katalyzuje konverzi (přeměnu) ethanolu na acetaldehyd. Acetaldehyd je vysoce reaktivní a toxický vedlejší produkt, který vyvolává závažné poruchy metabolismu, může poškodit tkáň a případně vyvolat závislost (Zakhari, 2006). Je známo, že nižší aktivita alkoholdehydrogenasy se vyskytuje u žen. U tohoto enzymu nelze navodit zvýšení jeho produkce nebo aktivity. Také míra

jeho nasycení ovlivňuje rychlost přeměny, to znamená, že rychlost přeměny se nezvyšuje při koncentraci ethanolu 1 % obj. a vyšších. Vzniklý acetaldehyd je v těle metabolizován pomocí enzymu aldehyddehydrogenasy (ALDH, mitochondriální izoforma) na acetát (kyselina octová) – konečný produkt (Norberg et al., 2003, Zima, 2011). Dále je kyselina octová využita v Krebsově cyklu. Aktivovaná forma kyseliny octové (univerzální metabolit při odbourávání živin) jako acetyl – CoA, vstupuje do Krebsova cyklu, kde dochází k jeho oxidaci a odbourávání na oxid uhličitý za současného uvolnění energie (Manzo-Avalos et Saavedra-Molina, 2010).

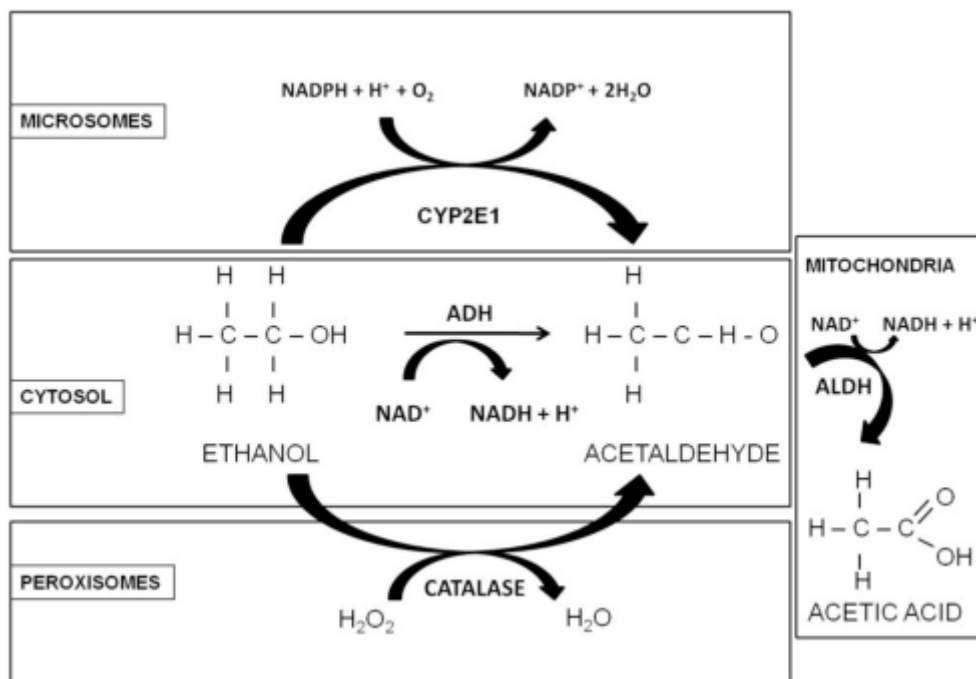
Acetaldehyd vzniklý oxidací alkoholu, je velmi reaktivní a toxická sloučenina. Jeho reaktivita a toxicita je dána jeho schopností vázat se na proteiny a tvořit s nimi addukty, dále se může vázat na fosfolipidy, DNA (DNA addukty) a na nukleové kyseliny, které může modifikovat (jeden z možných mechanismů kancerogenního působení ethanolu) (Agarwal, 2001, Norberg et al., 2003, Lieber, 2005, Zakhari, 2006, Zima, 2011). Metabolit alkoholu acetaldehyd vytváří kondenzací s dopaminem (neurotransmitter) salsolinol (endogenní alkaloid), díky kterému vzniká nebo může vzniknout návyk morfinového a endorfinového typu (Schreiber, 2004, Xie et al., 2013).

Alkohol v krvi u dospělého člověka dosáhne nejvyšší koncentrace za 30 minut – 2 hodiny od požití. Průměrný pokles hladiny alkoholu (ethanolu) v krvi u dospělého člověka je 15 – 20 mg/dl/h, u dětí to je asi 28 mg/dl/h a u chronických alkoholiků to může být až 30 – 40 mg/dl/h. (Kresánek a kol., 2009).

Mikrosomální ethanolový oxidační systém (MEOS), byl popsán v roce 1968 (Lieber, 2005). MEOS může fungovat u chronických konzumentů alkoholu a pomáhá tělo zbavit ethanolu prostřednictvím cytochromu P450, který je označován jako cytochrom P450III<sub>E1</sub> nebo CYP2E1 (Norberg et al., 2003, Gemma et al., 2006). MEOS je přítomen v hladkém endoplazmatickém retikulu jater, ale i plic, placenty, kůže i mozku. Tímto isoenzymem jsou metabolizována xenobiotika, hlavně ethanol na acetaldehyd. Dále může být metabolizován i fenol, tetrachlormetan, acetaminophen, benzen, ale i vitamin D. Je indukovatelný nejen ethanol, ale i látkami, které oxiduje, například benzenem, alkoholy a ketony (Lieber, 2005, Zima, 2013).

Enzym katalasa, která je lokalizovaná v peroxisomech, má nejméně významnou roli v metabolismu ethanolu. Katalasa je též schopna oxidovat ethanol (asi 2 %) na acetaldehyd za přítomnosti peroxidu vodíku (Norberg et al., 2003, Zakhari, 2006 Zima, 2013).

Obrázek 2: Metabolismus ethanolu



(Manzo-Avalos et Saavedra-Molina, 2010),

<<http://www.mdpi.com/1660-4601/7/12/4281/htm>>

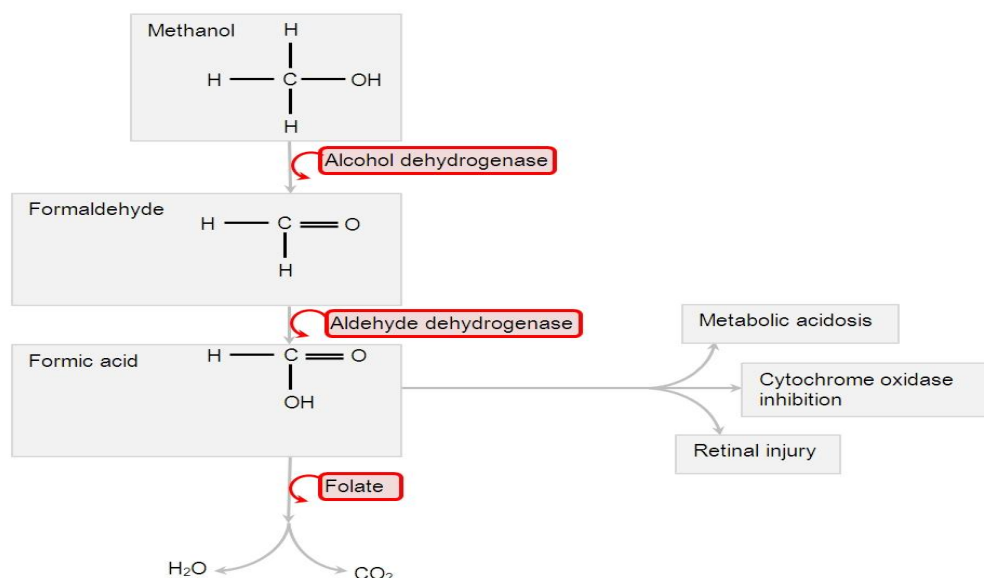
### 3.6.3.1 Methanol

Methanol, (CH<sub>3</sub>OH, HCHOH), methylalkohol, karbinol, dřevný lřh, je nejjednodušší alifatický alkohol. Je mnohem nebezpečnější a toxičtější než ethanol a bývá s nřm často zaměněn, což může mít fatální následky. Problém spočívá v tom, že nelze čichem nebo chutí jednoznačně rozlišit methanol od ethanolu. Methanol je alkoholicky páchnoucí, bezbarvá, nízkovroucí (bod varu 64,65 °C), čirá tekutina neomezeně mísitelná s vodou, acetonem, etherem a ostatními alkoholy. Je silně jedovatý a vysoce hořlavý (Široký, 2006, Sharma et al., 2012). Methylalkohol je velmi nebezpečný nejen při jeho požití, ale i při zasažení očí, pokožky nebo při nadýchání jeho par. Vyznačuje se velmi dobrou rozpustností ve vodě i v tucích. Velmi snadno prostoupí buněčné membrány a rychle se dostane do krevního oběhu. Methanol není sám o sobě toxický, toxický začíná být až po jeho biotransformaci v organismu (Kruse, 1992, Široký, 2006). Methylalkohol je metabolizován (Obrázek 3) jaterní alkoholdehydrogenázou na formaldehyd (CH<sub>2</sub>O, methanal) a ten je pak dále za účasti glutathionu oxidován aldehyddehydrogenázou (formaldehyddehydrogenázou) na kyselinu mravenčí (HCOOH, methanová kyselina, acidum formicum). Formaldehyd a kyselina mravenčí jsou zodpovědní za toxicitu dřevného lihu, methanolu. Kyselina mravenčí a později

vzniklá oxidací kyselina mléčná, se v organismu akumuluje a způsobuje útlum buněčného dýchání a metabolickou acidózu (Lanigan, 2001, Široký, 2006, Sharma et al., 2012, Holeček, 2013). Akumulace kyseliny methanové také způsobuje snížení hladiny kyseliny tetrahydrolistové (redukovaná, aktivní forma kyseliny listové) v játrech. V důsledku toho takto vzniklá kyselina mravenčí (acidum formicum) nemůže být dále odbourávána a metabolizována, protože folát je kofaktorem enzymu 10 – formyl – tetrahydrodehydrogenázy, který katalyzuje přeměnu kyseliny mravenčí na oxid uhličitý (Tephly, 1991, Roldan et al., 2003, Široký, 2006). Kyselina mravenčí v organismu nejen vyvolává vážnou metabolickou acidózu, ale má i za následek neurologické poruchy a poruchy zažívacího traktu (Sharma et al., 2012). Toxické metabolity methanolu mohou vyvolat poškození sítnice a zrakového nervu. Poškození sítnice může vést k trvalé až úplné slepotě. Důvodem poškození je fakt, že k odbourávání metylalkoholu nedochází pouze v játrech, ale i v sítnici (Holeček, 2013).

Vznik methanolu je zapříčiněn hydrolýzou methylesterů pektinu (polysacharidu), který je lokalizován ve slupkách ovoce. Za účelem usnadnění kvasného procesu je ovoce, které obsahuje tento polysacharid rozemleto. Uvolněné pektiny jsou náchylnější k hydrolýze nebo se dostávají do kontaktu s enzymy, které proces hydrolýzy ještě urychlí. Množství methanolu vzniklé tímto procesem je desetkrát až stokrát nižší než množství ethanolu vzniklého kvašením (Holeček, 2013, Martínková, 2014). Do alkoholických nápojů, kdy není dodržen poměr methanolu a ethanolu 1 : 10 nebo i nižší, se může methylalkohol dostat dvěma způsoby. Zaprvé je to u destilátů, které jsou připravované mícháním lihu s přísadami. Při tomto procesu může být část ethanolu záměrně zaměněna za methanol s cílem ušetřit za spotřební daň, protože methylalkohol není zdaněn speciální daní. Další nadlimitní výskyt methanolu v destilátech spočívá v technologické chybě procesu destilace (Martínková, 2014).

Obrázek 3: Metabolismus methanolu



<<http://www.derangedphysiology.com/php/Metabolic-acidosis/images/metabolism%20of%20ethanol.jpg>>

### 3.7 Metody stanovení alkoholu

K možným metodám, které slouží ke stanovení alkoholu ve finálním výrobku, patří například destilační metoda, metoda plynové chromatografie, refraktometrická metoda, blízká infračervená spektroskopie, měření alkoholu pomocí ultrazvuku a head-space analýza.

#### 3.7.1 Destilační metoda

Destilační metoda je standardní separační metoda. Přístrojové vybavení u této metody je relativně nenáročné a v laboratořích většinou dostupné (destilační zařízení, váhy, pyknometr). Při měření obsahu alkoholu se využívá nejen rozdílného bodu varu, ale i rozdílné hustoty alkoholu a vody. Nevýhody této metody jsou rozdílné údaje alkoholometrických tabulek, časová náročnost, pracnost a souběžné stanovení dalších těkavých látek. Metoda je založena na oddělování kapalných látek na základě rozdílné teploty varu. Při zahřívání dvousložkové směsi na teplotu varu, přechází do plynné fáze směs, která je bohatší na těkavější složku (Dandarova a kol., 1995, Madson, 2003).

### **3.7.2 Metoda plynové chromatografie**

Hlavním principem chromatografických metod je dělení analytu mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Z nichž je jedna nepohyblivá, tedy stacionární a druhá pohyblivá - mobilní. Dělení složek je založeno na jejich rozdílné afinitě ve směsi ke stacionární a mobilní fázi. Chromatografii lze rozdělit podle uložení stacionární fáze na chromatografii papírovou, sloupcovou a tenkovrstvou. Podle použité mobilní fáze se dělí chromatografie na plynovou (GC), kapalinovou (HPLC) a superkritická fluidní chromatografie (SFC). U plynové chromatografie je mobilní fází plyn. Plynovou chromatografií lze separovat látky plynné nebo látky, které lze definovaně převést v plyn (Kupiec, 2004, Sobotníková a kol., 2010).

### **3.7.3 Refraktometrická metoda**

Refraktometrie je analytická metoda. Principem této optické metody je měření indexu lomu světla a využití lomu světelného paprsku na rozhraní vícesložkového systému voda – těkavé látky. Nevýhodou této metody je, že se výsledky neshodují s naměřenými hodnotami získanými destilační metodou (Dandarova a kol., 1995, Castritius et al., 2010).

### **3.7.4 Blízká infračervená spektroskopie**

Blízká infračervená spektroskopie (NIRS) je analytická metoda. Je přesná, rychlá a nedestruktivní (Xiaobo et al., 2010). Slouží k získávání informací o molekulární struktuře dané látky a k identifikaci různých směsí a látek. Tato metoda je založená na interakci molekul s infračerveným zářením. V průběhu této interakce dochází k absorpci IČ (infračerveného) záření. Tento jev je zaznamenáván pomocí přístroje zvaného spektrometr. Výstupem tohoto zařízení je tak zvané spektrum, které představuje závislost absorbance na vlnové délce. NIR oblast je od 750 nm do 2500 nm a pokrývá tak část energetického spektra mezi viditelnou a střední infračervenou oblastí. Hlavní podstata spektrometrického měření spočívá v měření velikosti útlumu světelné vlny na určité dráze (Dandarova a kol., 1995, Ferrari et al., 2004, Castritius et al., 2010).

### **3.7.5 Měření alkoholu pomocí ultrazvuku**

Existují dva druhy ultrazvukových přístrojů (on - line a laboratorní analyzátoři), které jsou schopni změřit obsah alkoholu například v pivu. On - line analýza je metoda, která je založena na měření rychlosti zvuku v pivu. Vychází se z měření času, za který ultrazvukový puls o frekvenci 1 až 5 MHz urazí určitou dráhu. Tento přístroj je opatřen mikroprocesorem,



který zpracovává signál, udává konečný výpočet a kontroluje generaci ultrazvukového pulsu. Laboratorní automatický analyzátor piva (PAAR) měřením hustoty a rychlosti zvuku stanoví nejen obsah alkoholu, ale i skutečný extrakt v pivu (Dandarova a kol., 1995).

### **3.7.6 Head-space analýza**

Head-space analýza je metoda, která je založena na analýze plynné fáze nacházející se v rovnováze s kapalinou a to v uzavřeném systému. Head – space metody slouží k izolaci těkavých látek a jsou založené na těkavosti stanovovaných látek. Jedná se o metodu, která je velice rychlá a jednoduchá (Dandarova a kol., 1995, Štěrbá a kol., 2011).

## **3.8 Fermentace**

### **3.8.1 Mléčné kvašení**

Mléčné kvašení je anaerobní proces, během kterého se uplatňují homofermentativní bakterie (*Lactococcus Lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* a *Enterococcus faecium*) nebo heterofermentativní bakterie (*Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *reuteri*, *fermentum* a bakterie rodu *Bifodobacterium*). Hlavním produktem homofermentativního mléčného kvašení je laktát (kyselina mléčná). Naopak u heterofermentativního mléčného kvašení vzniká nejen kyselina mléčná, ale i acetát oxid uhličitý a ethanol. Bakterie mléčného kvašení bývají často náročné na podmínky prostředí, na živiny, vitaminy a organické dusíkaté látky. Tohoto anaerobního procesu se nejen využívá v mlékárenském průmyslu, ale i při silážích a při výrobě kysaného zelí (Demain et Sanchez, 2003, Wee et al., 2006).

### **3.8.2 Alkoholové kvašení**

Pro alkoholové kvašení jsou typické kvasinky rodu *Saccharomyces* a *Kluyveromyces* a například některé bakterie rodu *Zymomonas*. Alkoholové kvašení je biochemický, převážně anaerobní proces, během kterého je vyvolána enzymová přeměna jednoduchých sacharidů (monosacharidů a disacharidů) za vzniku ethanolu a oxidu uhličitého za současného uvolnění energie a tepla. Jedná se převážně o glykolytický proces. V průběhu alkoholového kvašení dochází k přeměně glukosy na kyselinu pyrohroznovou. Kyselina pyrohroznová je dekarboxylována na acetaldehyd a oxid uhličitý za přítomnosti pyruvátdekarboxylasy. Dále následuje redukce acetaldehydu na ethanol za účasti alkoholdehydrogenasy. Vedlejšími

produkty alkoholového kvašení jsou například glycerol, kyselina octová, acetaldehyd, a kyselina mravenčí (El – Mansi et al., 2007).

### **3.8.3 Octové kvašení**

Pro octové kvašení jsou typické bakterie rodu *Acetobacter* a *Gluconobacter*. Jedná se o aerobní proces (aerobní alkoholové kvašení) za vzniku kyseliny octové. Při výrobě alkoholických nápojů je tento proces nežádoucí (Demain et Sanchez, 2003, Parrondo et al., 2003).

## **3.9 Mléčné fermentované nápoje**

### **3.9.1 Kefír**

Kefír je kvašený mléčný nápoj vyrobený za pomoci kefírové kultury. Kefírová kultura je směsí kvasinek (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida*, *Zygosaccharomyces*, *Turolopsis*), streptokokových bakterií (*Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis*), tyčinkových bakterií (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii*) a grampozitivních kokových bakterií (*Lactococcus lactis*) (Suková, 2008). Výroba kefíru může probíhat dvěma způsoby. První způsob výroby je z mléka, které je naočkován čistou kefírovou kulturou. Při druhém typu výroby jsou použita kefírová zrna. Kefír je bohatý na vitaminy B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>), vitamin K, vitamin D, biotin, vápník, fosfor, aminokyseliny a kyselinu listovou. Obsahuje přibližně 2,8 % bílkovin, 1 – 1,5 (3) % tuku, 0,8 % kyseliny mléčné, zhruba 2,5 % laktosy a méně než 1 % obj. alkoholu. pH kefíru je mezi 4,2 – 4,6. Jedním z indikátorů kvality je obsah CO<sub>2</sub>, který výrobku propůjčuje lehkou perlivost. Kefír má také mnoho příznivých účinků na lidské zdraví. Příznivě ovlivňuje střevní peristaltiku. Je snadno stravitelný. Má příznivý vliv na sekreci žluči a trávicích šťáv a stimuluje imunitní systém. Kefíru jsou připisovány protizánětlivé účinky, ale i pozitivní vliv na vzhled kůže. Blahodárné účinky kefíru spočívají mimo jiné i v obsahu probiotických mikroorganismů (Koroleva, 1991, Kuo et al., 1999, Rodrigues et al., 2005, Figler et al., 2006, Mojka, 2013).

### **3.9.2 Kumys**

Kumys je středoasijský mírně alkoholický kvašený nápoj vyráběný převážně z kobyliho mléka. Některé zdroje uvádí, že na výrobu kumysu může být použito jak velbloudí, tak i oslí mléko. Kumys obsahuje 1 – 3 % obj. alkoholu, 2 % tuku, 2,2 % laktosy, 0,4 – 1 % kyseliny

mléčné, 1 % bílkovin, 0,3 % soli a oxid uhličitý. Mimo jiné obsahuje také enzymy, antimikrobiální látky a vitaminy A, D, E, C a B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>). Tento fermentovaný mléčný nápoj má mírně nakyslou až štiplavou chuť. Tvoří základní stravu pastevců. Jsou mu připisovány pozitivní účinky na lidské zdraví. Je hojně využíván při léčbě kurdějí, plicních onemocnění a při různých otravách (Prajapati et Nair, 2008, Mojka, 2013).

### **3.10 Alkoholické a jiné syrovátkové nápoje**

Už v roce 1970 začala první výroba syrovátkových nápojů. Jedním z nejstarších syrovátkových nápojů je „Rivella“ a pochází ze Švýcarska. V dnešní době je možné nalézt na trhu různé druhy a typy syrovátkových nápojů. Sirovátkové nápoje mohou být vyráběny a připravovány z nativní sladké nebo kyselé syrovátky, z WPC nebo WPI, deproteinizované a demineralizované syrovátky (ve formě prášku), sušené syrovátky nebo z nativní, přírodní syrovátky, která je zředěna vodou. Tyto nápoje mohou být také vyrobeny pomocí procesu zvaného fermentace syrovátky (Jeličić et al., 2008). Beucler et al. (2005) ve své studii uvádí, že by se mohly syrovátkové nápoje připravovat i ze syrovátkového permeátu. Bylo by to možné jen v případě, že by ho tyto nápoje obsahovaly pouze 25 až 50 %, protože vyšší obsah permeátu v nápoji způsobuje nežádoucí slanou chuť. Jednou z nevýhod čerstvé kapalné syrovátky při výrobě nápojů je její vysoký obsah vody. Díky tomu může dojít ke snížení její údržnosti a následně může hrozit kontaminace nežádoucí mikroflórou. Proto by měla být čerstvá kapalná syrovátka tepelně ošetřena (Jeličić et al., 2008). Ovšem syrovátkové bílkoviny jsou termolabilní. Jejich denaturace začíná už při teplotě nad 60 °C, kdy dochází k vysrážení určitého podílu bílkovin po obvyklém tepelném ošetření při teplotě 72 °C po dobu 15 – 20 sekund. Mnohé studie se zabývaly ošetřením syrovátky pomocí ultrazvuku nebo pomocí mikrofiltrace (pomocí membránového procesu). Zjistilo se, že ultrazvuk může přispět k lepší rozpustnosti syrovátkových proteinů (Jeličić et al., 2008, Režek–Jambrak et al., 2008). Díky tomuto procesu by mohlo být sníženo určité množství sedimentu, který vzniká v syrovátkovém nápoji během jeho skladování. V případě okyselení syrovátky, kdy pH je pod hodnotu 3,9, se stávají syrovátkové proteiny termorezistentními. Nedochozí u nich ani ke srážení během UHT ošetření (Jelen, 2003). Další ohromnou nevýhodou může být vysoký obsah minerálů v sušině syrovátky. Tyto minerály jsou zodpovědné za její hořko-slano chuť. Zvláště výrazný problém nastává u kyselé syrovátky, kde je vysoký obsah, jak kyseliny mléčné, tak i minerálů. To může mít za následek vznik velkého množství sedimentů během tepelného opracování, nadbytečnou kyselost a také může docházet k vytváření sraženin

ve finálním produktu (Tratnik, 2003). Při výrobě čirých nápojů je značnou nevýhodou v čerstvé syrovátce vysoký obsah syrovátkových bílkovin, který se musí hlídat, z důvodu aby se nevytvořil zákal (Suková, 2006). A však i přes všechny tyto nevýhody se ukázalo, že zpracování čerstvé tekuté syrovátky je stále ekonomicky i technologicky výhodné (Koffi et al., 2005). Beecher et al., (2008) ve své studii uvádějí, že pocit trpkosti syrovátkových nápojů v ústech je přičítán vysoké koncentraci bílkovin a to většinou nad 3 % a nízkému pH (3,5) v interakci se slinnými bílkoviny, které jsou bohaté na aminokyselinu prolin. Nízké pH vykazují nápoje s ovocnými příchutěmi. Naopak neutrální pH je spojeno s příchutěmi, jako je čokoláda a vanilka. Do nealkoholických syrovátkových nápojů se mohou během jejich výroby přidávat různé přísady, jako jsou například meruňky, broskve, hrušky, jablka, třešně, jahody nebo brusinky, ale i různé druhy tropického ovoce. Dále mohou být nápoje obohaceny o otruby, rýžové otruby, med, čokoládu, kakao, rostlinné bílkoviny, vanilku a jiné aromatizující látky. Někteří autoři také navrhují, že při výrobě nápojů, pro úpravu jejich vůně a chutě, je možné použití kyseliny citronové, která upravuje kyselost. Dále je možné využití fruktosy, sacharosy, hydrolyzátů laktosy a oxidu uhličitého v kombinaci s různým ovocem (Jeličić et al., 2008).

Nápoje vyrobené ze syrovátky jsou vhodné jak pro dospělé, pro děti, seniory, ale také i pro osoby trpící fenylketonurií (nápoje s přidavkem glykomakropeptidového izolátu). Syrovátkové nápoje se pyšní svojí vysokou výživovou, nutriční hodnotou a pravděpodobně i svými příznivými terapeutickými účinky (Jeličić et al., 2008, Beránková, 2012). Tyto nápoje mohou u starší populace nebo u osob trpící osteoporózou zvýšit a zlepšit absorpci vápníku. U dětí a kojenců díky vysokému obsahu laktoferinu zvyšují ochranu střevní sliznice před patogeny a zlepšují vstřebávání železa z potravy (prevence anemií) (Beránková, 2012).

Na trhu je možné zakoupit přímo sušenou syrovátku (natural nebo různé příchutě), syrovátkové nápoje v kapalném stavu nebo práškové směsi, které mohou být zabaleny v PET láhvích nebo kartonech (Suková, 2006, Jeličić et al., 2008).

### **3.10.1 Syrovátkové nápoje – nealkoholické**

Do skupiny nealkoholických syrovátkových nápojů patří syrovátkové nápoje s přidavkem ovocných koncentrátů a ovocného aroma. Využívání ovoce a ovocného aroma se při výrobě ukázalo jako velmi efektivní, protože je schopno překrýt vůni vařeného mléka, ale i hořkoslanou chuť čerstvé syrovátky. Obsah ovocné sušiny se v nápoji může pohybovat od 5 % do 20 % (Djurić et al., 2004). Ovoce výrobku dodává další vitaminy a minerály, které zvyšují

jeho nutriční hodnotu (Sakhale, 2012). Například aplikace lesních plodů a bobulí je vítaná. Toto ovoce je dobrým zdrojem železa a antioxidantů. Brazílská skupina vědců zjistila, že dlouhodobá spotřeba nápojů s jahodovým koncentrátem, které jsou obohacené bisglycinátem železnatým, měly vliv na snížení prevalence anémie u dětí a dospělých (Miglioranza et al., 2003). Velmi lahodnou chuť, atraktivní vůni a vysoké nutriční hodnoty má ovoce mango, které pochází z tropických a subtropických oblastí. Mango je výborným zdrojem vitamínu A, vitamínu C, má vysoký obsah  $\beta$ -karotenu, draslíku a vlákniny. Jeho nízká kalorická hodnota ho činí přitažlivým a velice atraktivním pro mnohé výrobce a zpracovatele (Sakhale, 2012).

Mann (1999) uvádí, že velmi příjemnou chuť vykazuje indický nápoj na bázi syrovátky. Tento nápoj obsahuje 8 % citronové šťávy a 14 % cukru. Nápoj je fortifikován vitamínem A (1000 m.j./100 ml). Na Haryanské zemědělské univerzitě v Indii byl připraven nápoj na bázi syrovátky (z buvolího mléka) doplněný mrkvovou šťávou v poměru 60 : 40 s přídavkem 7 % sacharózy. Jako konzervační činidlo byla použita kyselina benzoová v koncentraci 0 – 600 mg/kg. Sterilizace probíhala při 90 °C po dobu 20 minut (Mann, 1998).

V Egyptě je vyráběn nápoj na bázi buvolího mléka a jako zředující přísada se přidává syrovátkový permeát. Dále tento nápoj obsahuje 4 % cukru, 0,5 % soli a vodu (Benešová a kol., 1999, Mann, 1999). Dále se v Egyptě zabývali různým poměrem sladké syrovátky (buvolí) a sójového či podzemnicového koncentrátu pro přípravu nápojů. Nejlepší organoleptické vlastnosti vykazovala směs obsahující 5 % podzemnicového bílkovinného koncentrátu (Mann, 1998).

Syrovátkový nápoj se šťávou z aceroly (tropická višň) představuje výrobek s vysokou nutriční hodnotou. Toto tropické ovoce obsahuje ve svých plodech vysoké množství vitamínu C a to v množství 800 až 4000 mg na 100 g plodů. Dále obsahuje vitaminy skupiny B ( $B_1$ ,  $B_2$  a  $B_3$ ) (Cruz et al., 2009). Jednou z nevýhod aplikace ovoce je, že v nápoji postupem času během skladování, vzniká sediment, který může mít vliv na negativní sensorické hodnocení, jako je například vzhled. Vznik sedimentu je způsoben vzájemným působením, interakcí sušiny ovoce s bílkoviny syrovátky. Na druhé straně pokud je při výrobě tohoto nápoje použito menší množství ovoce, finální výrobek nemá dobré sensorické vlastnosti, kterými jsou například chuť a vůně (Djurić et al., 2004, Koffi et al., 2005).

Přezrálé banány a kyselá syrovátka jsou většinou považovány za odpadní produkty. Na základě toho vznikl smísením (3 díly kyselá syrovátka a 2 díly drcených banánů)

banánový koktejl. Banány byly ošetřeny horkou parou po dobu 2 minut. Homogenizace koktejlů byla účinná pouze pro zlepšení krátkodobé trvanlivosti, ale byla škodlivá pro ostatní aspekty (Mann, 1998).

Perasiriyan et al., (2013) uvádí, že byl připraven syrovátkový bylinný nápoj. Sirovátkový „čaj“ obsahoval syrovátku a různé koncentrace sušeného čaje. Nejlepšimu senzoričkému hodnocení, pokud šlo o vzhled, barvu, aroma a chuť, se dostalo nápoji s 1 % sušeného čaje. Navíc tento nápoj obsahoval zdraví prospěšné polyfenoly.

Při výrobě syrovátkových nápojů s příchutí čokolády je odtučněné mléko nahrazeno syrovátkovým koncentrátem (WPC – 35 %). Tyto čokoládové nápoje během svého skladování vykazují stejně dobrou chuť, stabilitu a viskozitu jako odtučněné čokoládové mléko (de Wit, 2001). Kakaový prášek z kakaových bobů obsahuje užitečné vitaminy, minerály a bioaktivní látku stimulující nervový systém (theobromin) (Jayeola a Omueti, 2011).

Na Kubě je mezi spotřebiteli velice oblíbený čokoládový nápoj připravený ze sladké syrovátky a sójových bobů. Obsahuje 2 % bílkovin, 1,5 % cukru, 0,1 % soli a 0,14 % stabilizátorů. Během vlastní výroby se sójová pasta míchá se sladkou syrovátkou při pH 6,5. Následně je směs se zbytkem přísad homogenizována (Benešová a kol., 1999, Mann, 1999).

### **3.10.2 Dietetické nápoje**

Dietetické syrovátkové nápoje se pyšní velmi nízkou energetickou hodnotou (104 – 113 kJ/100 ml), což je dělá zároveň vhodnými pro velkou skupinu spotřebitelů. Součástí těchto nápojů bývá ovocný základ, umělá sladidla například sacharin nebo cyklamáty a stabilizátor. Právě v aplikaci umělých sladidel nastává problém, protože některým umělým sladidlům, jsou připisovány toxické účinky (Jeličić et al., 2008). Na druhou stranu jsou umělá sladidla v syrovátkových nápojích vhodná pro osoby bojující s obezitou a nadváhou a pro lidi s onemocněním *Diabetes mellitus* (Meena et al., 2012). Jako velmi dobrá alternativa se ukazuje používání přírodních sladidel či laktosových hydrolyzátů (glukosa a galaktosa). Laktosové hydrolyzáty mají mnohem vyšší sladivost, rozpustnost, ale i velmi dobré absorpční schopnosti než samotná laktosa. Nejsou jim zatím připisovány toxické účinky a nevyvolávají alergické reakce u osob trpících laktosovou intolerancí (Jeličić et al., 2008). Tyto nápoje byly například podávány osobám s namáhavým povoláním s cílem dodat potřebnou energii a kompenzovat elektrolytické ztráty (Singh a Singh, 2012).

Společnost Madeta se sídlem v Českých Budějovicích přišla na trh v roce 2012 s novinkou (Obrázek 4) „Fitness, syrovátkový nápoj“. Jedná se o pasterovaný výrobek s 0 % tuku. Základ tvoří kyselá syrovátka. Tento výrobek obsahuje lehce stravitelné syrovátkové bílkoviny, laktosu, vitaminy, minerální látky a mléčné kyseliny. Obsažené bílkoviny mají pozitivní vliv na nasycení člověka a tím i potlačení pocitu hladu. Díky nízkému obsahu tuku, by mohl být tento nápoj dobrým pomocníkem pro osoby, které se snaží zhubnout, ale i pro sportovce. Od roku 2012 je možné na trhu objevit Fitness syrovátkový nápoj s příchutí manga, brusinky, citrusů a s příchutí bílého čaje s broskví. Společnost Madeta nezůstala jen u těchto zmíněných příchutí. Na trhu lze také objevit Fitness syrovátkový nápoj Energy obsahující kofein a taurin. (Madeta, 2012).

Kozí biofarma DoRa v Ratibořicích vyrábí syrovátkový nápoj (Sydora) (Obrázek 5), který obsahuje 60 % kozí bio syrovátky a 40 % jablečného bio moštu (Dvůr Ratibořice, DoRa, 2015). Také jedna středně velká mlékárna z Frýdku Místku nezůstává pozadu. Vyrábí syrovátkové nápoje (S – Drink) ve čtyřech různých příchutích a to mandarinka – broskev, pomeranč, malina – citron a piña colada (Tatarčíková, 2007).

Při vývoji dietetických mléčných nápojů se nezapomíná ani na zvířata. Ve Francii byl patentován nápoj pro kočky a psy s tonizujícím účinkem. Nápoj se připravuje naředěním permeátu sladké nebo kyselé syrovátky vodou (nejlépe 350 g/l). Nápoj je doplněn minerály, vitaminy a aminokyselinami podle potřeby (Mann, 1998).

Obrázek 4: Fitness syrovátkové nápoje



<<http://www.madeta.cz/cz/vyrobky/prehled-vyrobku?kategorie=zakysane-napoje> >

Obrázek 5: Sydora, syrovátkový nápoj



<<http://www.kozimleko.cz/33/sydora-syrovatkovy-napoj>>

### 3.10.3 Nápoje připravené ze sušené syrovátky

Nápoje ze sušené syrovátky jsou instantní. Sušená syrovátka má dobrou rozpustnost ve vodě a i velmi dobrou životnost (Obrázek 6). Tyto instantní nápoje mohou být obohacené nejen o vitaminy, minerály, ale jsou i dobrým zdrojem bílkovin. Ve srovnání s kapalnou syrovátkou, je sušená syrovátka jednodušší na přepravu a uskladnění. Do sušené syrovátky může být přimíchána například sója, ale i sušené ovoce (Jeličić et al., 2008).

Obrázek 6: Sušená syrovátka Amálka



<<http://www.bioamalka.cz/e-shop/?filter=primary.tag.category=22>>

### 3.10.4 Fermentované syrovátkové nápoje

Fermentací syrovátky (i z deproteinizované syrovátky) lze vyrobit nápoj, který má vysokou nutriční hodnotou. Výroba fermentovaného nealkoholického syrovátkového nápoje probíhá za pomoci bakterií mléčného kvašení, kterými jsou například *Lactobacillus delbrüeckii* sbsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*). Bakterie mléčného kvašení propůjčují takovému výrobku intenzivní jogurtové aroma a hlavně jsou i sensoricky podobné fermentovaným mléčným nápojům (Gallardo-Escamill et al., 2005). Syrovátkové nápoje s probiotickými bakteriemi pozitivně ovlivňují a působí na lidské zdraví. Probiotické bakterie stimulují



imunitní systém, zlepšují metabolismus laktosy, mohou mít pozitivní vliv na hladinu cholesterolu v krvi a mohou snižovat krevní tlak (Shah, 2007). Důležitým faktorem při výrobě probiotických syrovátkových nápojů je správný výběr probiotického kmene, protože právě správně zvolený probiotický kmen poskytuje výrobku výslednou chuť, aroma a texturu. Autoři Jeličić et al. (2008) ve své studii uvádějí, že se podařilo vyrobit senzorycky přijatelný probiotický syrovátkový nápoj. Tento nápoj byl připraven za pomoci probiotických kmenů: *Lactobacillus reuteri* a *Bifidobacterium bifidum* a obsahoval určité množství pektinu a cukru. Ale i jogurtová kultura (*Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*) se ukázala být velmi úspěšnou a vhodnou pro fermentaci syrovátky (Pescuma et al., 2008).

„Gefilus“ je syrovátkový fermentovaný nápoj, ochucený přísadkou ovocné šťávy, ovocným aroma a fruktosy. Tento nápoj pochází z Finska a vyrábí se ze syrovátkových bílkovinných koncentrátů nebo demineralizované syrovátky za pomoci bakteriálního kmene *Lactobacillus rhamnosus*. Než začne samotný proces fermentace, musí se nejprve hydrolyzovat laktosa, protože *Lactobacillus rhamnosus* má nedostatek enzymu  $\beta$ -galaktosidasy. Vzhledem k tomuto nedostatku je *Lactobacillus rhamnosus* méně vhodným kmenem pro fermentaci syrovátky (Jeličić et al., 2008).

### **3.10.5 Alkoholické syrovátkové nápoje**

Syrovátka je velmi vhodnou surovinou pro výrobu nápojů s nízkým obsahem alkoholu (méně než 1,5 % obj) a pro výrobu syrovátkového nápoje podobnému pivu a vínu. Deproteinizace syrovátky, zahuštění syrovátky a fermentace laktosy jsou hlavními procesy využívané při výrobě syrovátkových nápojů s nízkým obsahem alkoholu. Laktosa může být fermentována pomocí kvasinek, jako jsou například *Kluyveromyces fragilis* nebo *Saccharomyces lactis*. Určitá část laktosy je přeměněna na kyselinu mléčnou, která propůjčuje konečnému výrobku osvěžující a lehce kyselou chuť. Mezitím dále dochází k fermentaci zbylého množství laktosy na alkohol. Také se může během výroby přidávat určitého množství sacharosy až do dosažení 0,5 – 1 % obsahu alkoholu. Potom může následovat doslazení a ochucení. Finální produkt se stáčí do láhví (Jeličić et al., 2008).

Syrovátkové šumivé neboli perlivé víno zvané „Serwovit“ a nápoj zvaný „Milone“ patří k hlavním představitelům fermentovaných syrovátkových nápojů. Jedná se o nápoje, které byly připraveny a získány fermentací keřirovou kulturou. Během výroby je syrovátkové víno čištěno a filtrováno. Mezi další hlavní výrobní procesy může patřit deproteinizace, hydrolýza

laktosu za použití enzymu  $\beta$ -galaktosidasy, odkalování a chlazení. Potom nejčastěji následuje proces odkalení, zrání, filtrování a nakonec stáčení vína do láhví (Jeličić et al., 2008).

Syrovátkové pivo může obsahovat slad, ale není to podmínkou. Mohou v něm být obsaženy například škrobové hydrolyzáty, vitaminy a minerální látky. Během výroby syrovátkového piva mohou nastat určité problémy jako je například neschopnost pivních kvasinek fermentovat laktosu. Další technologický problém, který může během výroby nastat, může být nízká rozpustnost syrovátkových bílkovin. Tyto problémy s sebou přináší nežádoucí chuť a vůni a celkově negativní sensorické vlastnosti. Také přítomnost mléčného tuku (lipidů) v pivě může mít za následek ztrátu pivní pěny (Čížková a kol., 2006, Jeličić et al., 2008).

Bylo zjištěno, že dalším velmi účinným kvasinkovým kmenem pro výrobu ethanolu ze syrovátky je *Kluyveromyces lactis* a *Kluyveromyces marxianus* (Toyoda a Ohtaguchi, 2008, Guimarães et al., 2010). *Kluyveromyces fragilis*, které jsou také zodpovědné za alkoholové kvašení, se mohou uplatňovat například při výrobě octa ze syrovátky. Při výrobě octa je laktosa nejprve přeměněna za pomoci kvasinek *Kluyveromyces fragilis* na ethanol. Následně tento alkoholický produkt slouží jako substrát pro výrobu octa za pomoci bakterií octového kvašení (*Acetobacter pasteurianus*). Během octového kvašení dochází k přeměně ethanolu na kyselinu octovou, která je hlavní složkou octa. Takto připravený ocet měl 5,3 % koncentrace kyseliny octové. Účinnost octového kvašení byla až 84%. Finální produkt splnil požadavky FAO (Organizace spojených národů pro výživu a zemědělství) a tímto byl uznán za vhodný k lidské spotřebě (Parrondo et al., 2003).

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Materiál

Pro přípravu fermentovaných syrovátkových nápojů byla použita kyselá kravská syrovátka vyráběná českou firmou Polabské mlékárny, a.s. se sídlem v Poděbradech. Jako ochucující složky byly použity sacharosa v množství (1,5 % a 2 %), 100% pomerančová šťáva – bez dužniny (Relax), pH 3,72 a sušina 8,53 %. V experimentu „syrovátkové pivo“ byla použita mladina (pH 5,4) (12 % extraktu) ze Suchdolského minipivovaru - Česká zemědělská univerzita v Praze, Technická fakulta, Suchdolský Jeník. Dále byl pro přípravu fermentovaných syrovátkových nápojů přidán regulátor kyselosti, dochucovací látka, stabilizátor barvy a antioxidant kyselina citronová (E 330) (1% roztok kyseliny citronové). V experimentu „syrovátkové víno“ byla navíc použita živná sůl (hydrogenfosforečnan diamonný, síran amonný).

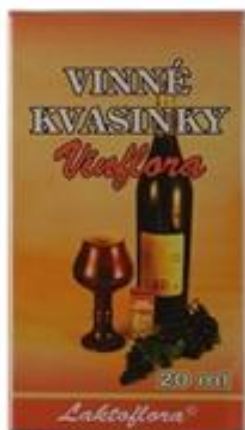
Syrovátka byla fermentována vybranými kulturami: keřirová kultura (sušená kultura – *Lc. lactis* subsp. *lactis* a *cremoris*, *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis*, *Lbc. acidophilus*, *Lbc. delbrueckii*, *Lbc. kefir*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefir*; Laktoflora-Milcom a.s.), jogurtová kultura (sušená kultura – *Lbc. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*; Laktoflora-Milcom a.s.) (Obrázek 7), vinné kvasinky Vinflora (tekutá kultura – *Saccharomyces cerevisiae*; Laktoflora-Milcom a.s.), (Obrázek 8), *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis* (sušená kultura, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský), *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* (tekutá kultura, Laktoflora-Milcom a.s.).

Obrázek 7: Použitá jogurtová a keřirová kultura



<<http://eshop.milcom-as.cz/>>

Obrázek 8: Vinné kvasinky Vinflora (tekutá kultura)



<<http://eshop.milcom-as.cz/vinne-kvasinky-vinflora>>

## 4.2 Přístroje

- Analytické váhy, Explorer Pro EP 214 C, kapacita rozsahu je max. 210 g, d = 0,1 mg
- Infračervené váhy Precisa HA 300, 310 M
- pH metr s rozsahem do pH 8, 112 Snail Instruments
- Skleněná elektroda
- MilcoScan FT 120 Foos
- Vodní lázeň
- Sterilizátor – autokláv Chirana PS 20 A
- Plynový chromatogram Agilent Technologies 7890A
- Termostat BT 120
- Teploměr
- Mikrocentrifuga Hettich EBA 21

### 4.2.1 Laboratorní sklo, chemikálie a jiné pomůcky

- Byreta
- Pipeta
- Titrační baňka,
- Kahan
- Polyesterová sýrařská plachta
- Cedník
- Pufry (ftalátový pufr o pH 4 a fosfátový pufr o pH 7)

- Sterilní Erlenmayerovy baňky
- Pipeta: 1 – 10  $\mu\text{l}$ , 10 – 100  $\mu\text{l}$ , 100 – 1000  $\mu\text{l}$
- Mikrozkmavky typu Eppendorf 2 ml
- Vialky 2 ml
- Sterilní pipety
- Sterilní špunty
- Hydroxid sodný
- Fenolftalein, 2% ethanolový roztok
- Kyselina citronová 1% roztok
- Sacharosa

### **4.3 Metodika**

V experimentu byla sledována aktivní a titrační kyselost kyselé syrovátky. Složení kyselé syrovátky bylo sledováno pomocí přístroje MilcoScan FT 120 Foos. V pokusu bylo použito celkem 5 vybraných kultur pro přípravu fermentovaného syrovátkového nápoje na bázi kyselé syrovátky. Celkem bylo připraveno 30 vzorků o rozdílném složení, u kterých byly sledovány senzorické vlastnosti.

Množství alkoholu respektive ethanolu ve vzorcích bylo zjišťováno pomocí plynového chromatografu. Protože se metoda ukázala být vhodnou pro zjišťování množství ethanolu ve fermentovaných syrovátkových nápojích, byla tato metoda použita u všech experimentů.

Celý experiment probíhal na katedře Kvality zemědělských produktů (FAPPZ, ČZU v Praze).

### **4.4 Příprava čerstvé kyselé syrovátky před fermentací**

U kravské kyselé syrovátky bylo nejprve zjišťováno složení pomocí přístroje MilcoScan FT 120 Foos, dále byla zjištěna aktivní kyselost a titrační kyselost. Poté byla syrovátka tepelně ošetřena ve vodní lázni při teplotě 90 - 95 °C na 90 minut, aby se zaručilo vysrážení a denaturace syrovátkové bílkoviny. Po zchlazení byla syrovátka přefiltrována přes polyesterovou sýrařskou plachtu, aby byla zbavena zbytků sýrařského prachu a bílkovinné sraženiny. Poté následovala už samotná příprava fermentovaných vzorků syrovátky. Po fermentaci byly vzorky znovu přefiltrovány z důvodu odstranění kalů. Před vlastní senzorickou analýzou byly vzorky vychlazeny na teplotu 6 – 8 °C a skladovány

po dobu jednoho dne. U připravených fermentovaných nápojů byla sledována opět titrační a aktivní kyselost a složení jednotlivých vzorků pomocí přístroje MilkoScan FT 120 Foos.

#### **4.5 Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje**

Po zahřátí na 90 - 95 °C po dobu 90 minut a přefiltrování přes polyesterovou sýrařskou plachtu byla syrovátka připravena k fermentaci pomocí 5 vybraných kultur. Před samotným zaočkováním se syrovátka zchladila v průměru na 30 – 40 °C. Po smíchání ochucujících složek se syrovátkou byla znovu zjištěna hodnota pH. Na základě tohoto zjištění se do roztoku, před zaočkováním vybranou kulturou, přidávala kyselina citronová (1% roztok), aby se cíleně snížilo pH vzorku před následnou fermentací (Kosikowski et Wzorek, 1977). Příprava vzorků probíhala za laboratorních podmínek při dodržení aseptických podmínek. Vzorky byly plněny do předem vysterilizovaných baněk a uzavřeny předem vysterilizovaným špuntem. Fermentace probíhala v termostatu. Po ukončení doby fermentace byly všechny připravené vzorky znovu přefiltrovány přes polyesterovou sýrařskou plachtu, aby se odstranil sediment a kal způsobený přídavkem 100% pomerančové šťávy nebo způsobený tvorbou usazenin z použitých fermentujících kultur.

##### **4.5.1 Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje pomocí jogurtové kultury**

Princip přípravy stejný jako v kapitole 4.2. Po zahřátí na 90 - 95 °C po dobu 90 minut a přefiltrování, byla kyselá syrovátka zchlazena na teplotu zaočkování (43 °C). Poté následovalo smíchání syrovátky s ochucujícími složkami. Ovocná, 100% pomerančová šťáva byla se syrovátkou namíchána v poměru 3:1 (3 díly syrovátky a 1 díl ovocné šťávy) (Johánková, 2014). Kyselina citronová, u vzorků bez pomerančové šťávy, byla přidávána do okyselení pH 4,50 (Kosikowski et Wzorek, 1977). U vzorků s pomerančovou šťávou byla kyselina citronová přidávána do okyselení pH 4,20. Následně byly všechny vzorky zaočkovány jogurtovou kulturou v množství 3 g/l syrovátky (dle návodu Laktoflora, jogurtová, sušená kultura). Celkem bylo připraveno 6 vzorků o rozdílném složení a to:

- vzorek 1: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová
- vzorek 2: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, sacharosa 1,5 %
- vzorek 3: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, sacharosa 2 %
- vzorek 4: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová

- vzorek 5: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, sacharosa 1,5 %
- vzorek 6: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, sacharosa 2 %

Fermentace probíhala v termostatu při teplotě 42 °C po dobu 4 – 5 hodin.

#### **4.5.2 Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje pomocí kefirové kultury**

Princip přípravy stejný jako v kapitole 4.2. Po zahřátí na 90 - 95 °C po dobu 90 minut a přefiltrování, byla kyselá syrovátka zchlazena na teplotu zaočkování (v průměru 30 °C). Poté následovalo smíchání syrovátky s ochucujícími složkami. Ovocná, 100% pomerančová šťáva byla se syrovátkou namíchána v poměru 3:1 (3 díly syrovátky a 1 díl ovocné šťávy). Kyselina citronová, u vzorků bez pomerančové šťávy, byla přidávána do okyselení pH 4,50. U vzorků s pomerančovou šťávou byla kyselina citronová přidávána do okyselení pH 4,20. Následně byly všechny vzorky zaočkovány kefirovou kulturou v množství 5 g/l syrovátky (dle návodu Laktoflora, kefirová, sušená kultura). Celkem bylo připraveno 6 vzorků o rozdílném složení a to:

- vzorek 1: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová
- vzorek 2: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, sacharosa 1,5 %
- vzorek 3: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, sacharosa 2 %
- vzorek 4: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová
- vzorek 5: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, sacharosa 1,5 %
- vzorek 6: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, sacharosa 2 %

Fermentace probíhala v termostatu při teplotě 23 °C po dobu 22 hodin.

#### **4.5.3 Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje pomocí *Kluyveromyces marxianus var. lactis***

Princip přípravy stejný jako v kapitole 4.2. Po zahřátí na 90 - 95 °C po dobu 90 minut a přefiltrování, byla kyselá syrovátka zchlazena na teplotu zaočkování (v průměru 30 °C). Poté následovalo smíchání syrovátky s ochucujícími složkami. Ovocná, 100% pomerančová

šťáva byla se syrovátkou namíchána v poměru 3:1 (3 díly syrovátky a 1 díl ovocné šťávy). Kyselina citronová, u vzorků bez pomerančové šťávy, byla přidávána do okyselení pH 4,50. U vzorků s pomerančovou šťávou byla kyselina citronová přidávána do okyselení pH 4,20. Následně byly všechny vzorky zaočkovány tekutou kulturou *Kluyveromyces Marxianus* var. *lactis* v množství 1 % inokula (dle doporučení Milcom a.s., Laktoflora). Celkem bylo připraveno 6 vzorků o rozdílném složení a to:

- vzorek 1: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová
- vzorek 2: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, sacharosa 1,5 %
- vzorek 3: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, sacharosa 2 %
- vzorek 4: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová
- vzorek 5: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, sacharosa 1,5 %
- vzorek 6: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, sacharosa 2 %

Fermentace probíhala v termostatu při teplotě 28 °C po dobu 5 dní (Ozmihci et Kargi, 2007).

#### **4.5.4 Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje podobnému vínu pomocí vinných kvasinek Vinflora**

Princip přípravy stejný jako v kapitole 4.2. Po zahřátí na 90 - 95 °C po dobu 90 minut a přefiltrování, byla kyselá syrovátka zchlazena na teplotu zaočkování (v průměru 30 °C). Poté následovalo smíchání syrovátky s ochucujícími složkami. Ovocná, 100% pomerančová šťáva byla se syrovátkou namíchána v poměru 3:1 (3 díly syrovátky a 1 díl ovocné šťávy). Kyselina citronová, u vzorků bez pomerančové šťávy, byla přidávána do okyselení pH 4,50. U vzorků s pomerančovou šťávou byla kyselina citronová přidávána do okyselení pH 4,20. Živná sůl (hydrogenfosforečnan diamonný, síran amonný) byla v roztoku rozpuštěna a aplikována v množství 3,6 g/10 l syrovátky. Následně byly všechny vzorky zaočkovány tekutou kulturou vinných kvasinek Vinflora v množství 20 ml/10 l syrovátky (dle návodu Laktoflora, tekutá kultura). Celkem bylo připraveno 6 vzorků o rozdílném složení a to:

- vzorek 1: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, živná sůl
- vzorek 2: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, živná sůl, sacharosa 1,5 %
- vzorek 3: kyselá kravská syrovátka, kyselina citronová, živná sůl, sacharosa 2 %



- vzorek 4: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, živná sůl
- vzorek 5: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, živná sůl, sacharosa 1,5 %
- vzorek 6: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, kyselina citronová, živná sůl, sacharosa 2 %

Během prvního experimentu, kdy fermentace probíhala 6 týdnů při pokojové teplotě, došlo u všech vzorků k výskytu plísně. Následkem toho se doba fermentace u druhého experimentu zkrátila na 14 dní při pokojové teplotě. Vzorky z prvního experimentu nemohly být pro sensorickou analýzu použity, tudíž se pokus musel znovu opakovat.

#### **4.5.5 Příprava fermentovaného syrovátkového nápoje podobnému pivu pomocí**

##### ***Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis***

Princip přípravy stejný jako v kapitole 4.2. Po zahřátí na 90 - 95 °C po dobu 90 minut a přefiltrování, byla kyselá syrovátka zchlazena na teplotu zaočkování (v průměru 30 °C). Poté následovalo smíchání syrovátky s ochucujícími složkami. Ovocná, 100% pomerančová šťáva byla se syrovátkou namíchána v poměru 3:1 (3 díly syrovátky a 1 díl ovocné šťávy). Pro ochucení se použila pivovarská mladina (12% extrakt) v poměru: 75 % mladiny a 25 % roztok syrovátky (Edler, 1997) s 100% pomerančovou šťávou (3:1). Kyselina citronová, u vzorků bez pomerančové šťávy, byla přidávána do okyselení pH 4,50. U vzorků s pomerančovou šťávou byla kyselina citronová přidávána do okyselení pH 4,20. Následně byly všechny vzorky zaočkovány sušenou kulturou pivních kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis* v množství 2 g/l (dle doporučení: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský). Celkem bylo připraveno 6 vzorků o rozdílném složení a to:

- vzorek 1: kyselá kravská syrovátka, pivovarská mladina, kyselina citronová
- vzorek 2: kyselá kravská syrovátka, pivovarská mladina, kyselina citronová, sacharosa 1,5 %
- vzorek 3: kyselá kravská syrovátka, pivovarská mladina, kyselina citronová, sacharosa 2 %
- vzorek 4: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, pivovarská mladina, kyselina citronová

- vzorek 5: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, pivovarská mladina, kyselina citronová, sacharosa 1,5 %
- vzorek 6: kyselá kravská syrovátka, 100% pomerančová šťáva, pivovarská mladina, kyselina citronová, sacharosa 2 %

Fermentace probíhala při nízkých teplotách (De Keukeleire, 2000) 8 – 10 °C po dobu 10 dnů (dle doporučení: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský).

## **4.6 Analýza vzorků**

### **4.6.1 Stanovení aktivní kyselosti syrovátky**

Před vlastním měřením se vždy musel pH metr nakalibrovat. pH metr se kalibroval v rozsahu 4 – 7 pH pomocí roztoků o známé hodnotě – pomocí pufrů (ftalátový pufr o pH 4 a fosfátový pufr o pH 7). Kalibrace probíhala při teplotě doporučené výrobcem (20 °C). Při vlastním měření se elektroda ponořila do syrovátky nebo do zfermentovaného vzorku syrovátky o teplotě 20 °C a změřila se odpovídající hodnota pH. Aktivní kyselost se vyjádřila v hodnotách pH a výsledek byl zaokrouhlen na 0,05 pH. Po každém měření se elektroda opláchla destilovanou vodou a následně osušila buničitou vatou. Měření bylo provedeno ve dvou opakováních.

### **4.6.2 Stanovení titrační kyselosti**

Titrační kyselost vzorků byla stanovena Soxhlet-Henkelovou titrační metodou (ČSN 57 0529) pomocí roztoku NaOH o koncentraci 0,25 mol/l a fenolftaleinu jako indikátoru. Při zjišťování titrační kyselosti se do titrační baňky odpipetovalo 25 ml vzorku syrovátky, přidalo se k tomu 1 ml roztoku 2% fenolftaleinu jako indikátoru. Za stálého míchání se vše titrovalo roztokem hydroxidu sodného o známé koncentraci (0,25 mol/l) do vzniku slabě růžového zbarvení. Toto zbarvení muselo vydržet minimálně 30 sekund. Kyselost se uvedla ve stupních Soxhlet – Henkela (SH) a výsledek byl zaokrouhlen na 0,05 SH. Měření bylo provedeno ve dvou opakováních.

### **4.6.3 Složení vzorků pomocí přístroje MilcoScan FT 120 Foos**

V další části experimentu bylo sledováno složení kyselé syrovátky před fermentací a po fermentaci. Jednotlivé komponenty byly sledovány pomocí přístroje MilcoScan FT 120

Foos na modulu „Improved Milk“. Modul pro měření je kalibrován na mléko. Hodnoty předkládaných vzorků mohou být ovlivněny odlišnou maticí.

Před vlastním měřením byly všechny vzorky nejprve vytemperovány ve vodní lázni na teplotu 40 °C a poté promíchány přeléváním – homogenizovány. Analýza byla pro každý vzorek provedena celkem dvakrát a následně byly tyto dvojí hodnoty přístrojem automaticky zprůměrovány. Přístroj MilcoScan FT 120 Foos pracuje na principu Fourier Transform InfraRed-FTIR. Využívá celého infračerveného spektra (milcom, 2014). Celková analýza každého vzorku je založena na měření absorpce infračerveného záření při specifických vlnových délkách pro každý stanovovaný komponent. Výsledné složení je uváděno v %, výjimkou jsou kyselost (SH) a hustota, která je udávána v jednotce g/cm<sup>3</sup> – pro konečný výsledek je nutno vydělit hodnotu (získanou z přístroje MilcoScan FT 120) 1000.

#### **4.6.4 Senzorická analýza**

Pro sensorickou analýzu byla vždy připravena 1 sada (1 kultura) po 6 vzorcích (6 různých složení). Celkem bylo připraveno 5 sad (5 kultur) po 6 vzorcích (6 různých složení). Vzorky byly hodnoceny po jednom dni skladování při teplotě 6 – 8 °C. Při této teplotě byly vzorky podávány k sensorické analýze v množství 30 ml (Gallardo-Escamilla et al., 2005). Před vlastní sensorickou analýzou byla panelu proškolených hodnotitelů podána čistá nefermentovaná kyselá syrovátka.

Vzorky byly hodnoceny panelem 6 školených hodnotitelů, kteří byli vyškoleni v oblasti sensorické analýzy podle ISO normy ISO 22935-1 a ISO 8586-1. Sensorické hodnocení probíhalo na katedře Kvality zemědělských produktů. Pro sensorické hodnocení byla použita 100 mm dlouhá, lineární, grafická, nestrukturovaná, orientovaná stupnice (ISO 13299, ISO 6658, ISO 6564). Příklad předkládaného sensorického protokolu je uveden v Samostatné příloze I. Všechny podávané vzorky byly kódovány (trojmístným) náhodně vybraným číselným kódem (Gallardo-Escamilla et al., 2005a, 2005b). Sensorické hodnocení bylo opakováno 2 krát. Pro statistické hodnocení byly vybrány pouze jen některé deskriptory. Částečné a v souladu s literaturou bylo vybráno 8 nejfrekventovanějších deskriptorů používaných při hodnocení právě těchto typů výrobků (Legarová a Kouřimská, 2010). Pro statistické hodnocení byly použity tyto deskriptory: celkový vzhled nápoje, příjemnost barvy, příjemnost vůně, viskozita, celková příjemnost chuti (flavour), příjemnost perlivosti, celková intenzita pachutí a celkové hodnocení nápoje.

Všechna naměřená data byla statisticky hodnocena analýzou rozptylu (analýza rozptylu jednoduchého třídění) a průměrné hodnoty byly porovnány použitím Tukeyho testu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  (95% statistická průkaznost) pomocí softwaru Statistica 12 (StatSoft Inc.).

#### **4.6.5 Stanovení ethanolu ve vzorku pomocí metody plynové chromatografie**

Ke stanovení obsahu ethanolu ve vzorku pomocí plynové chromatografie bylo připraveno 30 vzorků. U každého vzorku bylo provedeno opakování. Celkem bylo připraveno 60 vzorků. Nejprve se každý vzorek napipetoval do mikrozkušavky typu Eppendorf (2 ml) v množství 1,5 ml. Dále následovalo odstředění pomocí mikrocentrifugy (1500 otáček za 3 minuty). Po odstředění následovalo odebrání 1000  $\mu$ l vzorku z mikrozkušavky (Eppendorf) bez usazeniny (vztažena vodní fáze) do vialky o objemu 2 ml.

Od Agilent Technologies, Inc. mi byla pro stanovení ethanolu pomocí plynového chromatografu doporučena kolona Agilent CP-WAX 57 CB (25 m x 0,32 mm x 1,2), helium jako nosný plyn, kapalný nástřik 0,02  $\mu$ l v modu split v poměru 50 : 1, průtok 10 ml/min, FID detektor, teplotní program pece a další nastavení instrument dle aplikace A01330 (alcohols and glycols). Teplotní program 45 °C, gradient 20 °C/min., 180 °C drženo 15 minut, plamenový ionizační detektor 230 °C, autoinjektor 220 °C. Celková analýza jednoho vzorku trvala 22,5 minuty.

## **5 Výsledky**

### **5.1 Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (jogurtová kultura)**

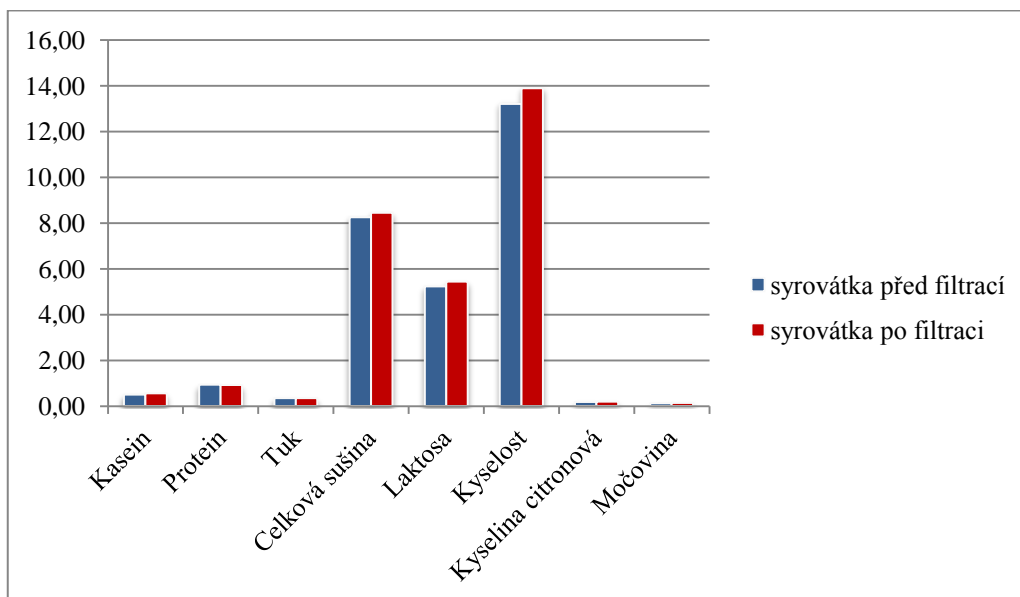
#### **5.1.1 Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (jogurtová kultura)**

Složení kyselé kravské syrovátky znázorňuje Graf 1. Kyselá kravská syrovátka před tepelným ošetřením a filtrací obsahovala 0,50 % kaseinu, 0,93 % bílkovin, 0,35 % tuku, 5,22 % laktosy a 8,24 % celkové sušiny. Následně po tepelném ošetření a filtraci kyselá kravská syrovátka obsahovala 0,55 % kaseinu, 0,90 % bílkovin, 0,34 % tuku, 5,43 % laktosy a celkové sušiny 8,44 %. Hustotu kyselé kravské syrovátky znázorňuje Graf 2. Nejvyšší hustotu měla v tomto případě kyselá kravská syrovátka po filtraci.

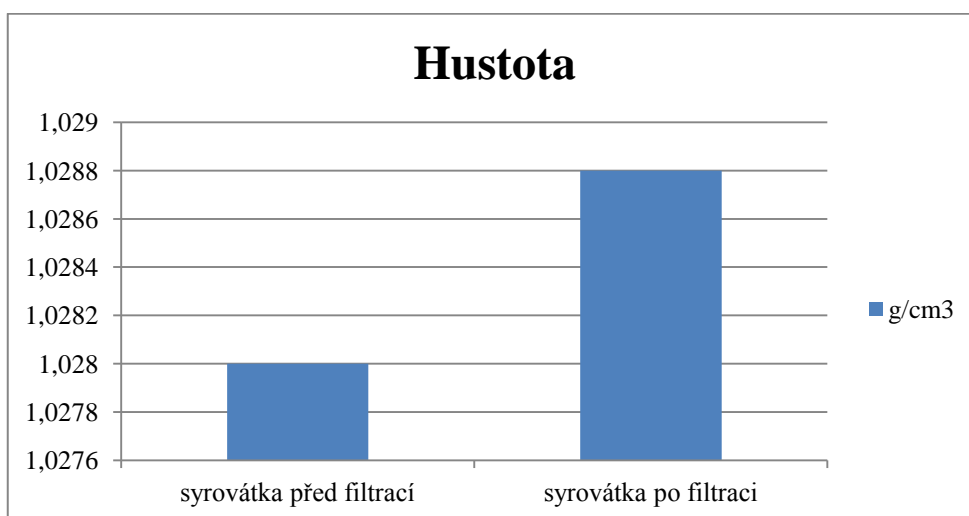
Složení a hustotu fermentovaných syrovátkových nápojů obsahujících jogurtovou kulturu znázorňuje Graf 3 a Graf 4. Získané výsledky (průměry – vždy ze dvou měření, opakování)

jsou vždy vztažené k původní hodnotě čisté syrovátky respektive kyselé kravské syrovátky před fermentací.

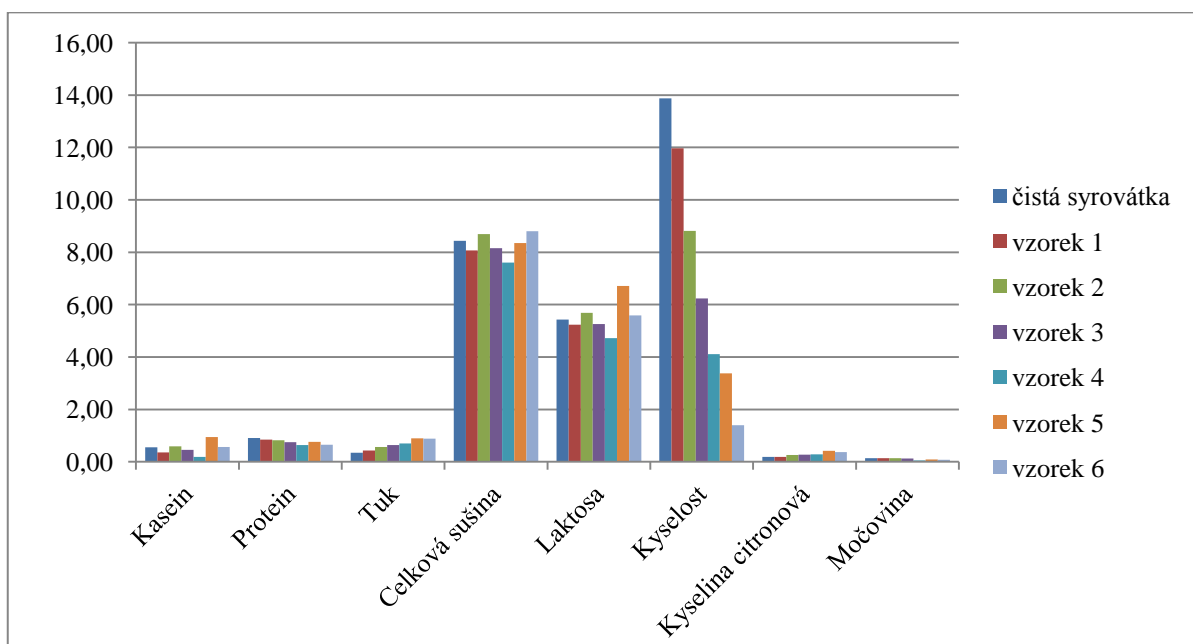
Graf 1: Složení kyselé kravské syrovátky



Graf 2: Hustota kyselé kravské syrovátky

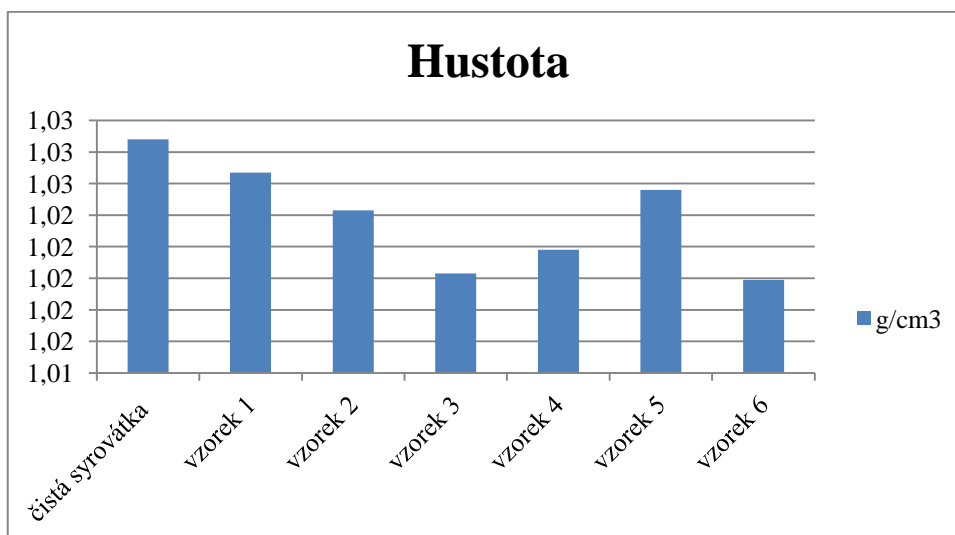


Graf 3: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (jogurtová kultura)



U všech vzorků s jogurtovou kulturou došlo k nepatrnému snížení obsahu bílkovin (0,64 – 0,85 % z původní hodnoty 0,91 %) a ke zvýšení obsahu tuku (0,43 – 0,90 % z původní hodnoty 0,34 %). Množství laktosy, kaseinu a celkové sušiny bylo proměnlivé. U vzorků 1 – 6 došlo k nárůstu množství kyseliny citronové (0,19 – 0,42 % z původní hodnoty 0,19 %).

Graf 4: Hustota fermentovaných syrovátkových vzorků



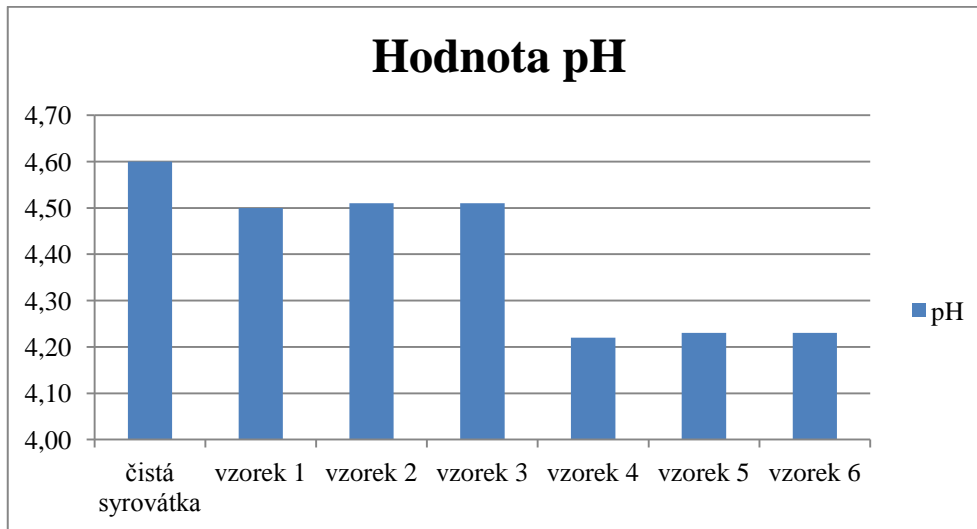
Hodnoty měřené hustoty vzorků 1 – 6 byly oproti hodnotě hustoty kyselé kravské syrovátky (před fermentací) proměnlivé. Celkově u všech hodnocených vzorků došlo k poklesu hustoty.

### 5.1.2 Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti (jogurtová kultura)

Hodnoty aktivní kyselosti byly měřeny po jednom dni skladování při teplotě 6 – 8 °C.

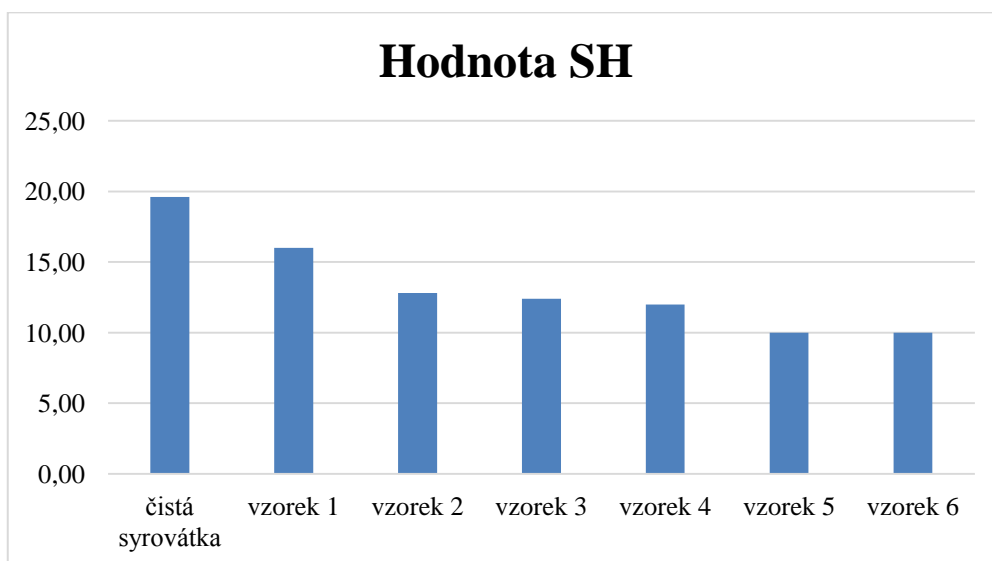
Graf 5 znázorňuje jednotlivé hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů. Graf 6 znázorňuje jednotlivé hodnoty titrační kyselosti předkládaných vzorků v porovnání s čistou kyselou syrovátkou před fermentací.

Graf 5: Hodnoty aktivní kyselosti



Z Grafu 5 lze zjistit, že nejnižší aktivní kyselost mají vzorky obsahující 100% pomerančovou šťávu, a to okolo 4,22 – 4,23 pH. Naopak nejvyšší aktivní kyselostí se vyznačují vzorky bez přídavku 100% pomerančové šťávy.

Graf 6: Hodnoty titrační kyselosti



Z Grafu 6 lze zjistit, že hodnoty titrační kyselosti vzorků 1 – 6 se pohybovaly v rozmezí 10 - 16 SH. Celkově u všech vzorků došlo k poklesu titrační kyselosti.

### 5.1.3 Výsledky senzoričkého hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů

Bylo posuzováno 30 vzorků – fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující vybranou kulturu. Nejdříve byly získané hodnoty vyjádřeny jako aritmetický průměr  $\pm$  směrodatná odchylka. Pro názorné porovnání vzorků byly výsledky vyneseny do paprskového grafu. Celková senzoričká kvalita bývá považována jako nejdůležitější charakteristika u syrovátkových nápojů. Na celkovou senzoričskou kvalitu těchto nápojů má největší vliv z 8 hodnocených deskriptorů hlavně chuť. Dále bylo těchto 8 senzoričkových hodnocení zpracováno v programu Statistica 12.

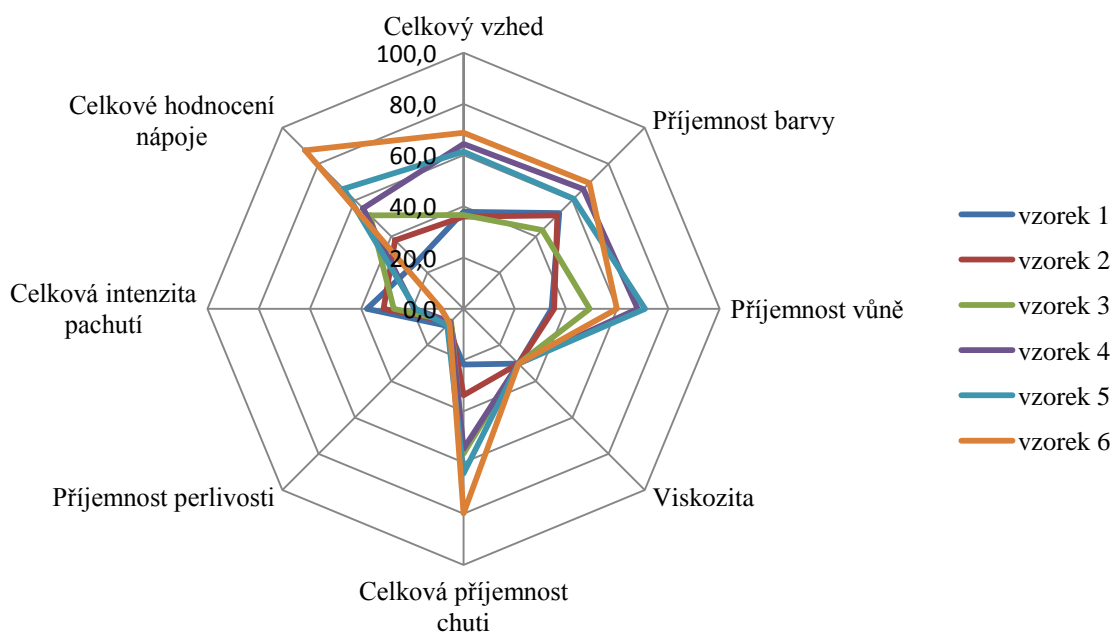


### 5.1.3.1 Výsledky senzoričkého hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (jogurtová kultura)

Tabulka 13: Výsledky senzoričkého hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující jogurtovou kulturu

Vzorek	Celkový vzhled	Příjemnost barvy	Příjemnost vůně	Viskozita	Celková příjemnost chuti	Příjemnost perlivosti	Celková intenzita pachutí	Celkové hodnocení
1	37,9±10,5	52,8±9,5	34,4±11,8	30,3±18,4	21,8±7,6	9,3±13,1	37,7±19,2	<b>25,9±8,4</b>
2	36,0±15,8	51,7±9,6	35,4±11,4	30,3±18,4	33,7±15	7,2±12,8	31,2±22,3	<b>37,8±15,4</b>
3	36,7±6,2	43,5±12,1	49,2±19,4	30,3±18,4	56,5±13,6	7,0±12,9	27,2±14,2	<b>51,6±14,8</b>
4	64,3±14,0	66,1±15,5	68,0±18,5	30,3±18,4	54,6±5,1	7,3±13,2	19,1±13,7	<b>55,5±9,8</b>
5	61,4±12,1	60,8±16,7	70,8±14,8	30,3±18,4	64,2±17,4	9,0±12,5	18,8±17,4	<b>66,2±18</b>
6	68,8±6,8	69,5±10,4	59,8±18,0	30,3±18,4	79,9±8,8	7,8±12,7	8,8±6,5	<b>87,5±7,9</b>

Graf 7 Senzorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující jogurtovou kulturu



Z Tabulky 13 vychází, že v celkovém hodnocení nejlépe dopadl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující jogurtovou kulturu, 100% pomerančovou šťávu, 2 % sacharosy a kyselinu citronovou. Druhým nejlépe hodnoceným nápojem byl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující jogurtovou kulturu, 100% pomerančovou šťávu, 1,5 % sacharosy a kyselinu citronovou. Nejhůře dopadl vzorek obsahující pouze jogurtovou kulturu a kyselinu citronovou.

Pomocí podrobnějšího zobrazení analýzy rozptylu bylo zjištěno, že se mezi sebou ve sledovaném znaku (celkový vzhled) statisticky významně nelišily vzorky 1 - 3 a 4 - 6. Například vzorky 1 a 4 se mezi sebou statisticky významně lišily, viz Samostatná příloha II. Ve sledovaném znaku (příjemnost barvy) se statisticky významně nelišily vzorky 1, 2, 4, 5 a 1 - 3 a 4 - 6. Například vzorky 3 a 6 se mezi sebou statisticky významně lišily (Samostatná příloha III). Ve sledovaném znaku (příjemnost vůně) se statisticky významně nelišily vzorky 1 - 3 a 3, 4, 6 a 4 - 6. Například vzorky 1 a 5 se mezi sebou statisticky významně lišily, viz Samostatná příloha IV. Ve sledovaném znaku (celková příjemnost chuti) se statisticky významně nelišily vzorky 3 - 5 a 1 - 2. Například vzorky 1 a 6 se mezi sebou statisticky významně lišily (Samostatná příloha V). Ve sledovaném znaku (celková intenzita pachutí) se statisticky významně nelišily vzorky 1 - 5 a 3 - 6. Například vzorky 1 a 6 se mezi sebou statisticky významně lišily (Samostatná příloha VI). Ve sledovaném znaku (celkové hodnocení nápoje) se statisticky významně nelišily vzorky 3 - 5 a 1 - 2 a 2 - 3. Například vzorky 1 a 4 se mezi sebou statisticky významně lišily, viz Tabulka 14 a Tabulka 15. Naopak se mezi sebou statisticky významně nelišily (nebyla přijata alternativní hypotéza) vzorky v deskriptorech viskozita a příjemnost perlivosti.

Tabulka 14: Základní tabulka výstupů analýzy rozptylu jednoduchého třídění

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro hodnocení (celkové hodnocení nápojů) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	210492,3	1	210492,3	1145,702	0,000000
vzorek	27972,9	5	5594,6	30,451	0,000000
Chyba	12125,8	66	183,7		

Ve výstupu analýzy rozptylu jednoduchého třídění je v jednotlivých částech výsledku vyhodnocena statistická významnost rozdílů mezi průměrnou hodnotou celkové hodnocení nápoje a 6 různých variant vzorků. V základní tabulce výsledků analýzy rozptylu je tabulka mezivýsledků a z nich odvozená hodnota F-testu ( $F = 30,451$ ). Hodnotě testového kritéria F opět odpovídá vypočtená hladina významnosti  $p = 0,00000$  v řádce vzorek. Vzhledem k hodnotě  $p$  výrazně nižší než stanovená hodnota  $\alpha = 0,05$  je přijata alternativní hypotéza, podle které se na obou zmíněných hladinách  $\alpha$  nejméně jedna dvojice z porovnávaných průměrů statisticky významně liší. Takovýto závěr znamená nutnost provedení podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu, který odhalí průměry respektive vzorky 1 - 6, které se mezi sebou statisticky významně liší. Podrobnější vyhodnocení bylo provedeno pomocí Tukeyho

metody - homogenní skupiny. Pokud byla hodnota  $p$  výrazně vyšší než stanovená hodnota  $\alpha = 0,05$  nebyla přijata alternativní hypotéza, což znamenalo, že se průměry statisticky významně neliší, a proto nebylo provedeno podrobnější vyhodnocení – Tukeyho metoda.

Tabulka 15: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (celkové hodnocení nápojů) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 183,72, sv = 66,000						
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3	4
1	1	25,91667		****		
2	2	37,75000		****	****	
3	3	51,58333	****		****	
4	4	55,50000	****			
5	5	66,16667	****			
6	6	87,50000				****

Průměry, které jsou označeny hvězdičkami ve stejném sloupci, se statisticky významně neliší na zvolené hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Průměry se významně liší, v případě, že jsou hvězdičky v různém sloupci.

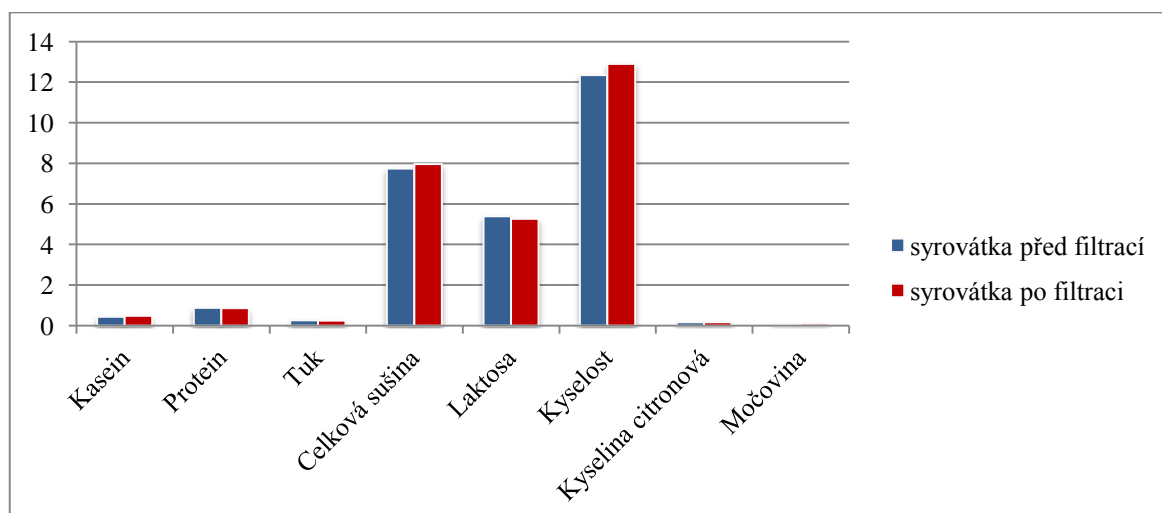
## 5.2 Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (kefírová kultura)

### 5.2.1 Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (kefírová kultura)

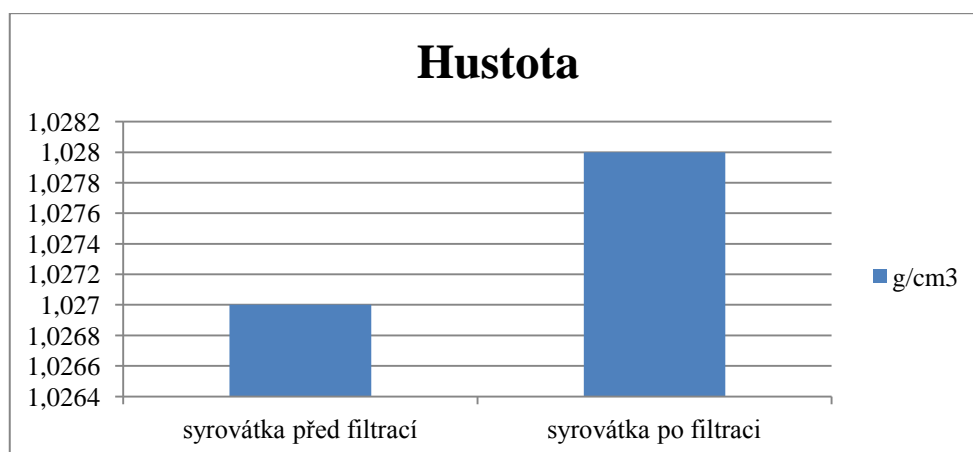
Rozdíly ve složení kyselé kravské syrovátky před filtrací a po filtraci znázorňuje Graf 8. Kyselá kravská syrovátka před tepelným ošetřením a filtrací obsahovala 0,44 % kaseinu, 0,88 % bílkovin, 0,27 % tuku, 5,40 % laktosy a 7,75 % celkové sušiny. Následně po tepelném ošetření a filtraci kyselá kravská syrovátka obsahovala 0,49 % kaseinu, 0,86 % bílkovin, 0,25 % tuku, 5,27 % laktosy a 7,97 % celkové sušiny. Hustotu kyselé kravské syrovátky znázorňuje Graf 9. Nejvyšší hodnotu hustoty měla v tomto případě kyselá kravská syrovátka po filtraci.

Složení a hustotu fermentovaných syrovátkových nápojů obsahujících kefírovou kulturu znázorňuje Graf 10 a Graf 11.

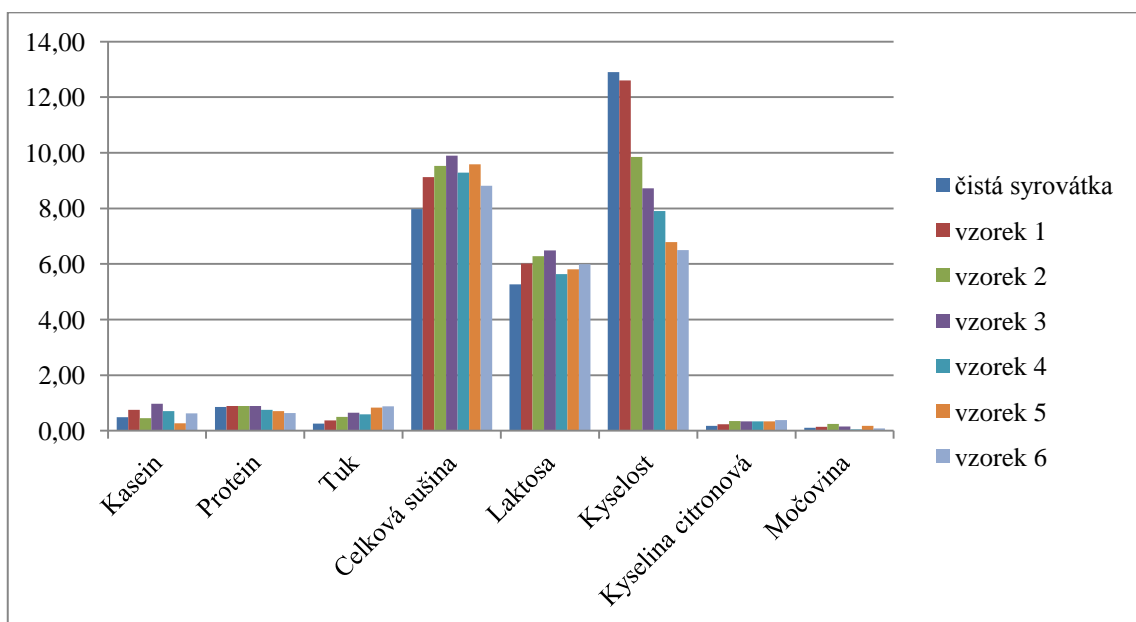
Graf 8: Složení kyselé kravské syrovátky



Graf 9: Hustota kyselé kravské syrovátky

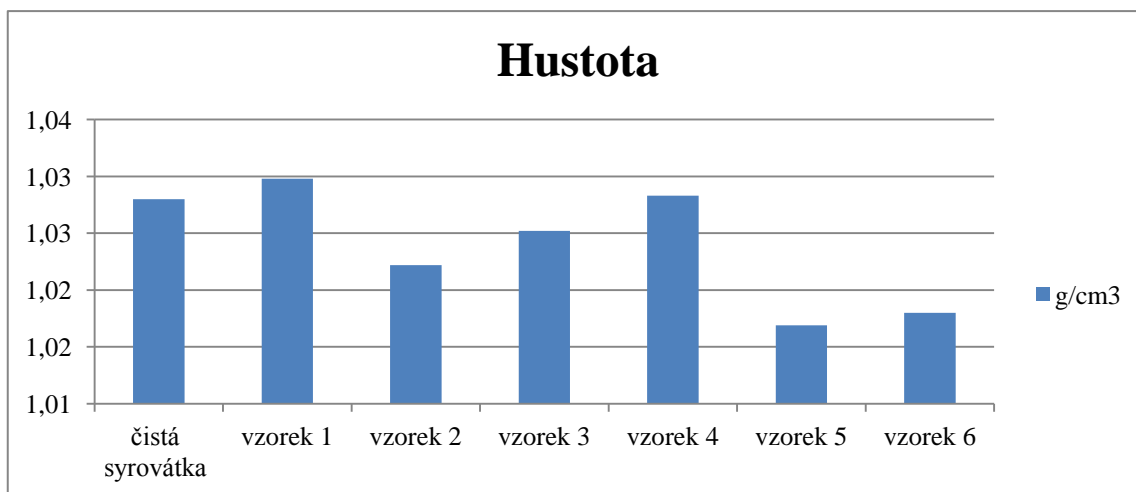


Graf 10: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (keřirová kultura)



U všech vzorků 1 – 6 s keřirovou kulturou došlo ke zvýšení obsahu tuku (0,37 – 0,88 % z původní hodnoty 0,25 %), ke zvýšení obsahu laktosy (5,63 – 6,49 % z původní hodnoty 5,27 %). Dále došlo ke zvýšení celkové sušiny (8,81 – 9,90 % z původní hodnoty 7,97 %) a ke zvýšení obsahu kyseliny citronové (0,23 – 0,38 % z původní hodnoty 0,18 %). Množství kaseinu a proteinu bylo proměnlivé.

Graf 11: Hustota fermentovaných syrovátkových vzorků



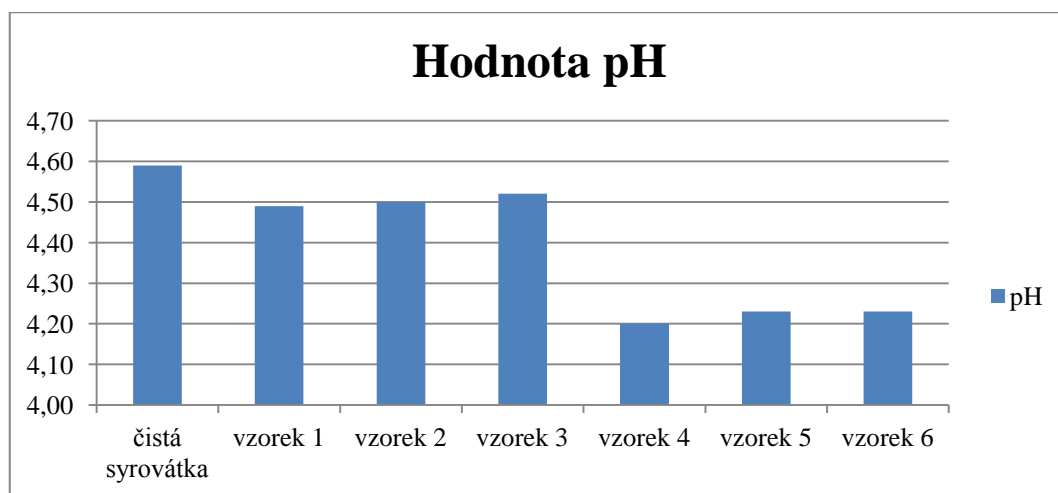
Hodnoty měřené hustoty vzorků 1 – 6 byly oproti hodnotě hustoty kyselé kravské syrovátky (před fermentací) proměnlivé. K největšímu poklesu hustoty došlo u vzorků 2 a 3 (obohacené sacharosou) a u vzorků 5 a 6 (obohacené sacharosou a 100% pomerančovou šťávou).

### 5.2.2 Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti (keřirová kultura)

Hodnoty aktivní kyselosti byly měřeny po jednom dni skladování při teplotě 6 – 8 °C.

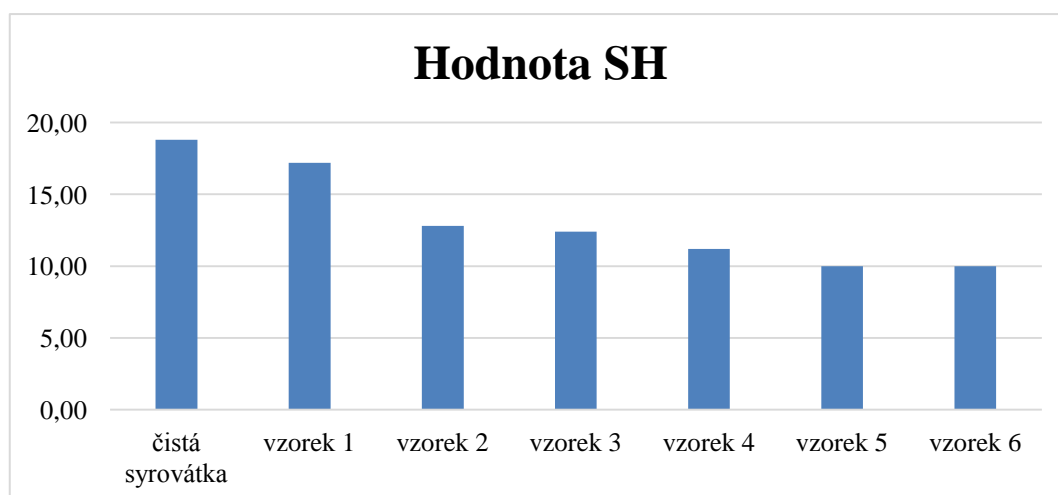
Graf 12 a 13 zobrazuje hodnoty aktivní a titrační kyselosti jednotlivých vzorků v porovnání s kyselou syrovátkou před fermentací.

Graf 12: Hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů



Z Grafu 12 lze zjistit, že nejnižší aktivní kyselost mají vzorky s přidavkem 100% pomerančové šťávy, a to okolo 4,20 – 4,23 pH. Naopak nejvyšší aktivní kyselostí se vyznačují vzorky bez přidavku 100% pomerančové šťávy.

Graf 13: Hodnoty titrační kyselosti



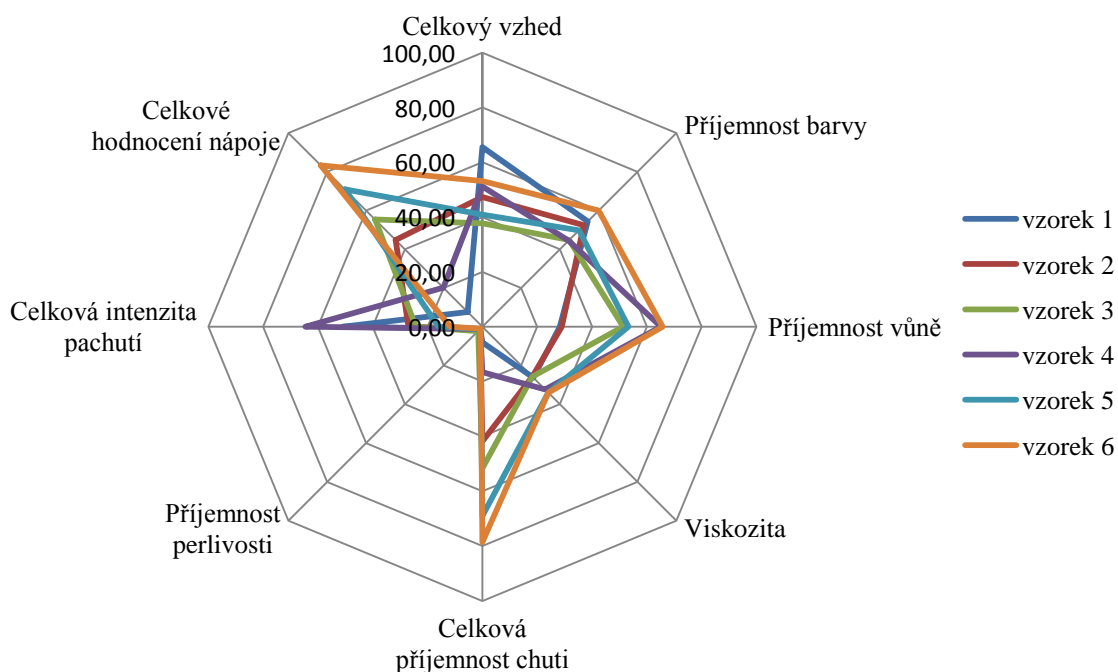
Z Grafu 13 lze zjistit, že hodnoty titrační kyselosti vzorků 1 – 6 se pohybovaly v rozmezí 10,00 – 17,20 SH. Celkově u všech vzorků došlo k poklesu titrační kyselosti.

### 5.2.3 Výsledky sensorického hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (kefirová kultura)

Tabulka 16: Výsledky sensorického hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující kefirovou kulturu

Vzorek	Celkový vzhled	Příjemnost barvy	Příjemnost vůně	Viskozita	Celková příjemnost chuti	Příjemnost perlivosti	Celková intenzita pachutí	Celkové hodnocení
1	65,5±27,5	54,3±17,4	28,3±17,3	26,2±15,6	5,7±4,0	1,2±0,7	50,9±15,2	7,6±4,0
2	47,3±32,7	52,3±17,4	29,0±15,5	25,8±15,3	41,8±11,4	1,2±0,7	27,0±13,3	44,8±12,3
3	37,7±9,0	44,8±12,4	51,4±14,2	25,8±15,3	51,6±11,1	2,2±4,0	24,3±13,0	55,3±9,7
4	51,2±13,4	44,5±16,1	65,2±21,3	32,3±8,6	16,6±11,6	1,2±0,7	64,6±22,0	20,1±15,8
5	40,9±17,8	49,8±19,7	53,3±23,4	34,0±8,6	69,0±14,1	1,2±0,7	16,0±15,3	70,8±13,6
6	53,1±13,1	59,9±9,4	65,8±14,7	34,0±8,6	78,6±8,9	0,9±0,9	11,8±10,8	83,3±7,0

Graf 14: Sensorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující kefirovou kulturu



Z Tabulky 16 vychází, že v celkovém hodnocení nejlépe dopadl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující kefirovou kulturu, 100% pomerančovou šťávu, 2 % sacharosy a kyselinu citronovou. Druhým nejlépe hodnoceným nápojem byl fermentovaný syrovátkový nápoj

obsahující keřirovou kulturu, 100% pomerančovou šťávu, 1,5 % sacharosy a kyselinu citronovou. Nejhuře dopadl vzorek obsahující pouze keřirovou kulturu a kyselinu citronovou.

Pomocí podrobnějšího zobrazení analýzy rozptylu bylo zjištěno, že se mezi sebou ve sledovaném znaku (celkový vzhled) statisticky významně nelišily vzorky 2 - 6 a 1, 2, 4, 5, 6. Například vzorky 1 a 4 se naopak statisticky významně lišily, viz Samostatná příloha VII. Ve sledovaném znaku (příjemnost vůně) se statisticky významně nelišily vzorky 3 - 6, 1 - 2 a 2 - 3. Například vzorky 1 a 6 se mezi sebou statisticky významně lišily (Samostatná příloha VIII). Ve sledovaném znaku (celková příjemnost chuti) se statisticky významně nelišily vzorky 2, 3, 6, a 1, 4. Například vzorky 1 a 5 se mezi sebou statisticky významně lišily (Samostatná příloha IX). Ve sledovaném znaku (celková intenzita pachutí) se statisticky významně nelišily vzorky 2, 3, 5, 6 a 1, 4. Například vzorky 2 a 4 se mezi sebou naopak statisticky významně lišily (Samostatná příloha X). Ve sledovaném znaku (celkové hodnocení nápoje) se statisticky významně nelišily vzorky 4 - 6 a 2 - 3. Například vzorky 3 a 6 se mezi sebou statisticky významně lišily (Samostatná příloha XI). Naopak se mezi sebou statisticky významně nelišily (nebyla přijata alternativní hypotéza) vzorky v deskriptorech příjemnost barvy, viskozita a příjemnost perlivosti.

### **5.3 Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)**

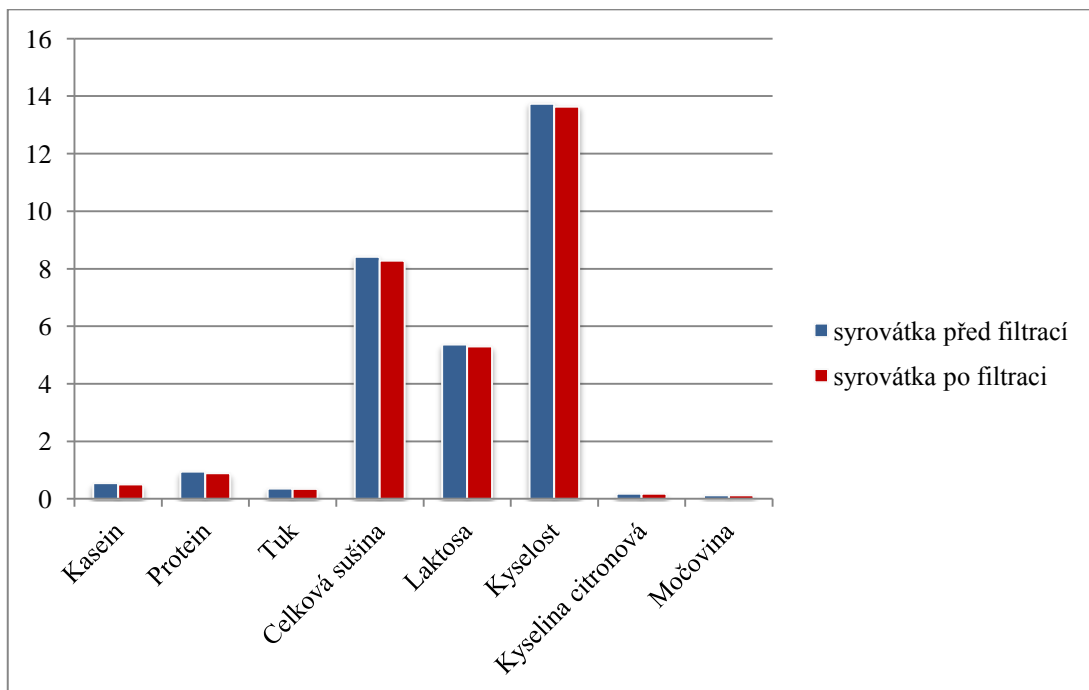
#### **5.3.1 Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)**

Rozdíly ve složení kyselá kravská syrovátka před filtrací a po filtraci znázorňuje Graf 15. Kyselá kravská syrovátka před tepelným ošetřením a filtrací obsahovala 0,55 % kaseinu, 0,95 % bílkovin, 0,36 % tuku, 5,37 % laktosy a 8,42 % celkové sušiny. Následně po tepelném ošetření a filtraci kyselá kravská syrovátka obsahovala 0,50 % kaseinu, 0,90 % bílkovin, 0,35 % tuku, 5,30 % laktosy a 8,28 % celkové sušiny. Hustotu kyselá kravská syrovátka znázorňuje Graf 16. Nejvyšší hodnotu hustoty měla v tomto případě kyselá kravská syrovátka před filtrací.

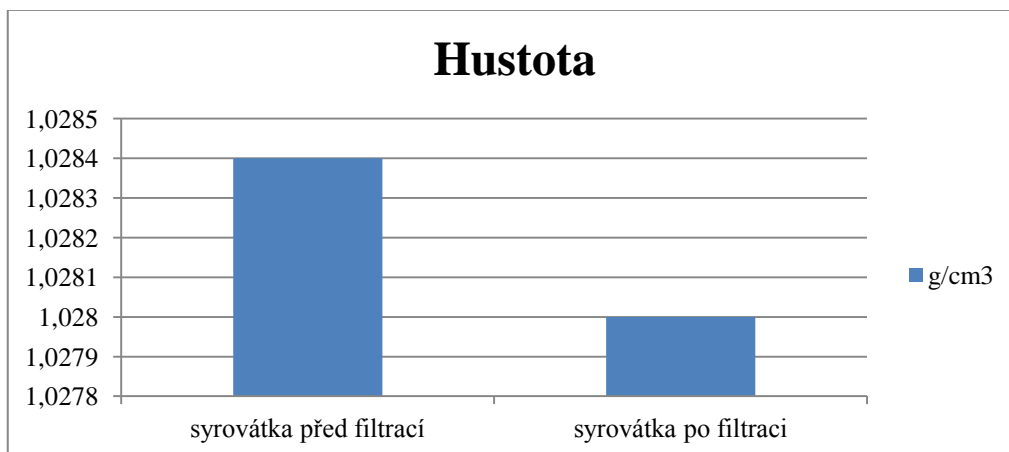
Složení a hustotu fermentovaných syrovátkových nápojů obsahujících tekutou kulturu *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* znázorňuje Graf 17 a Graf 18.



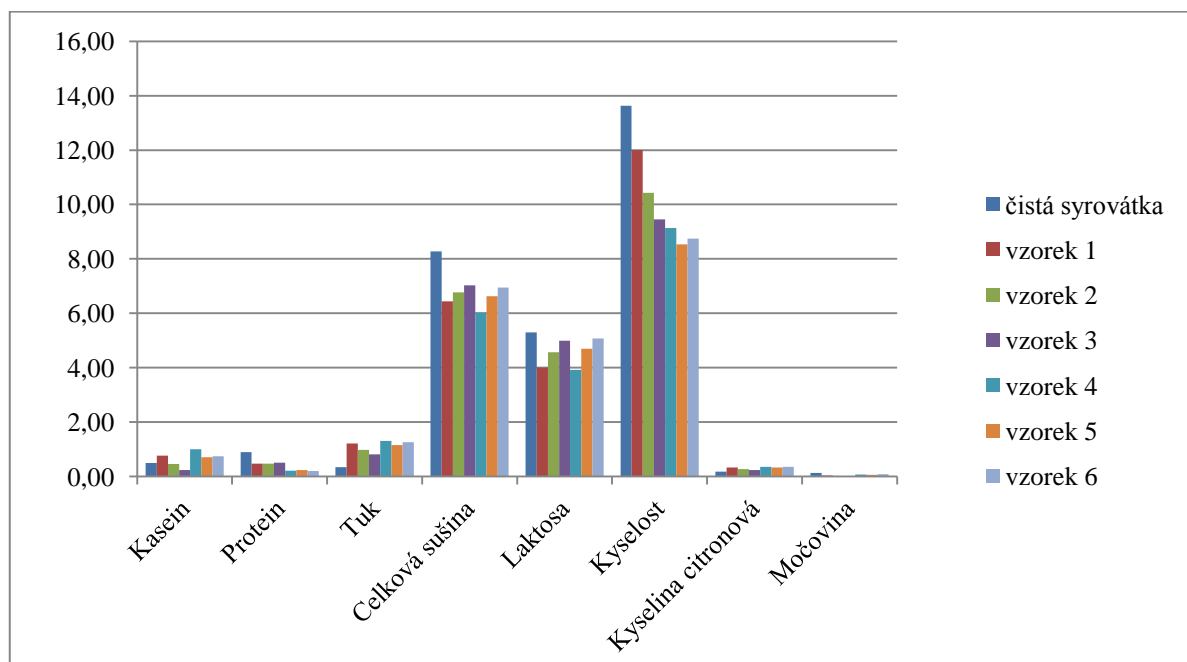
Graf 15: Složení kyselé kravské syrovátky



Graf 16: Hustota kyselé kravské syrovátky

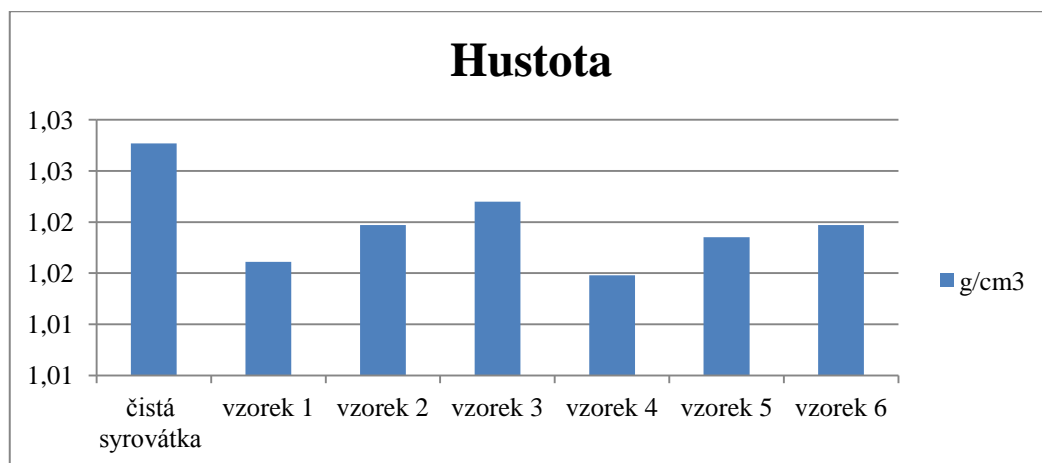


Graf 17: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)



U všech vzorků s tekutou kulturou *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* došlo ke zvýšení obsahu tuku (0,82 – 1,31 % z původní hodnoty 0,35 %) a ke zvýšení obsahu kyseliny citronové (0,24 – 0,36 % z původní hodnoty 0,18 %). Dále došlo u fermentovaných vzorků 1 – 6 ke snížení obsahu proteinu (0,20 – 0,51 % z původní hodnoty 0,90 %), ke snížení obsahu laktosy (3,92 – 5,08 % z původní hodnoty 5,30 %) a ke snížení celkové sušiny (6,03 – 7,03 % z původní hodnoty 8,28 %). Množství kaseinu bylo proměnlivé.

Graf 18: Hustota fermentovaných syrovátkových vzorků (*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)



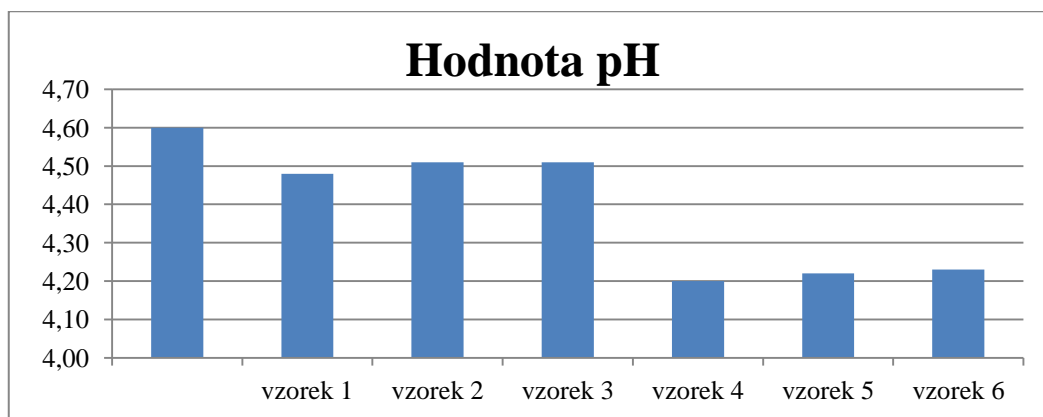
Hodnoty měřené hustoty vzorků 1 – 6 byly oproti hodnotě hustoty kyselé kravské syrovátky (před fermentací) proměnlivé. Vyšší hustotu vykazovaly vzorky 2 a 3 (obohacené sacharosou) a vzorky 5 a 6 (obohacené sacharosou a 100% pomerančovou šťávou). Celkově u vzorků 1 – 6 došlo k poklesu hustoty.

### 5.3.2 Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti (*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)

Hodnoty aktivní kyselosti byly měřeny po jednom dni skladování při teplotě 6 – 8 °C.

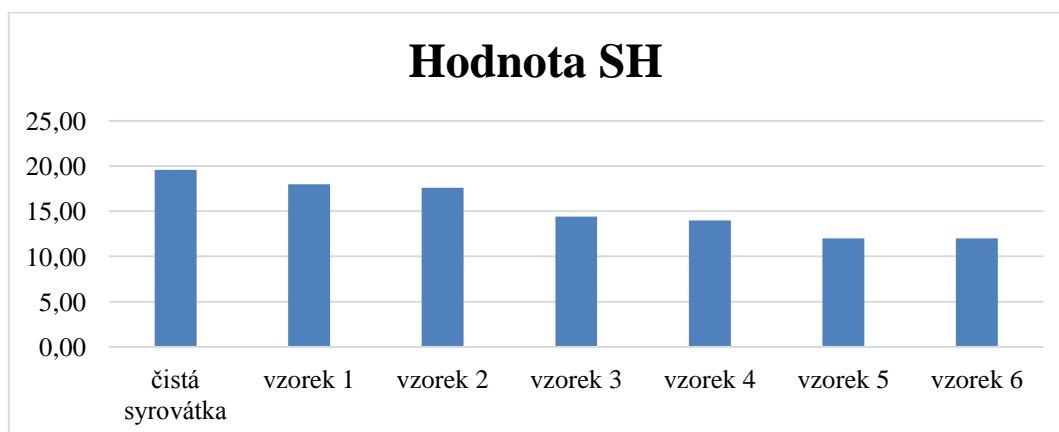
Graf 19 a 20 zobrazuje hodnoty aktivní a titrační kyselosti jednotlivých vzorků v porovnání s kyselou syrovátkou před fermentací

Graf 19: Hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů (*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)



Z grafu 19 lze zjistit, že nejnižší aktivní kyselost mají vzorky s přidavkem 100% pomerančové šťávy, a to okolo 4,20 – 4,23 pH. Naopak nejvyšší aktivní kyselostí se vyznačují vzorky bez přidavku 100% pomerančové šťávy.

Graf 20: Hodnota titrační kyselosti



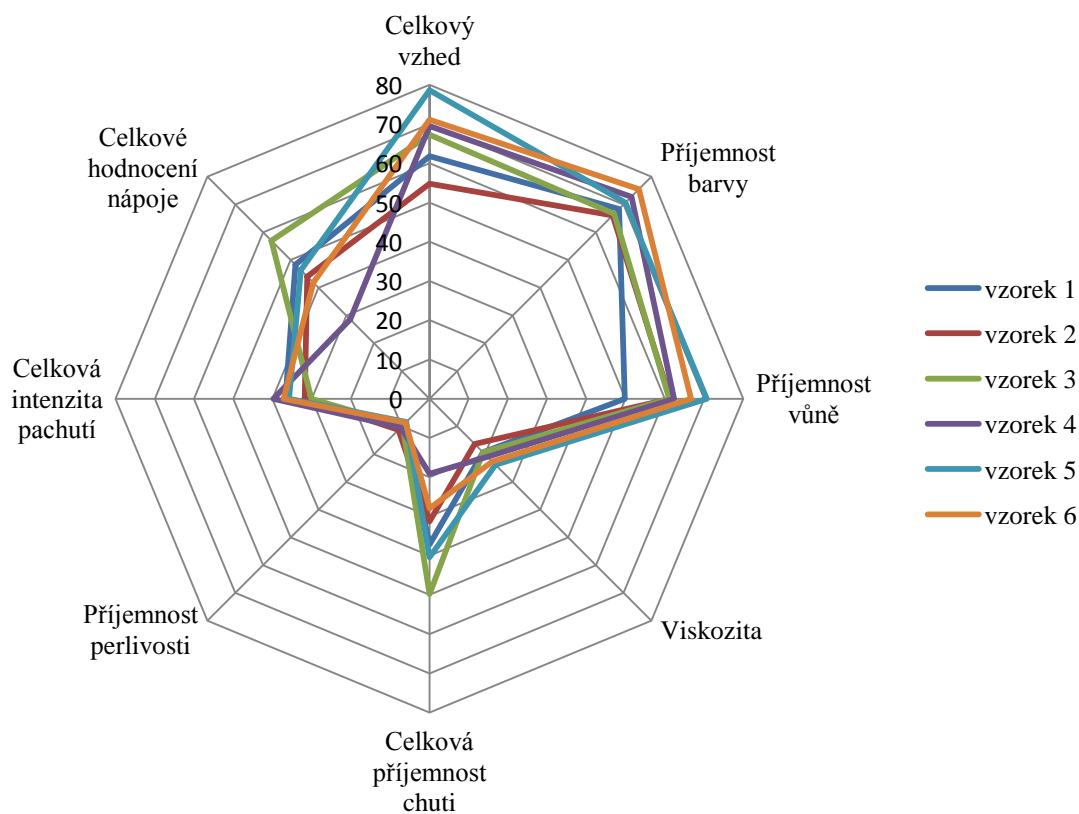
Z Grafu 20 lze zjistit, že hodnoty titrační kyselosti vzorků 1 - 6 se pohybovaly v rozmezí 12,00 – 18,00 SH. Celkově u všech vzorků došlo k poklesu titrační kyselosti.

### 5.3.3 Výsledky sensorického hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)

Tabulka 17: Výsledky sensorického hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*

Vzorek	Celkový vzhled	Příjemnost barvy	Příjemnost vůně	Viskozita	Celková příjemnost chuti	Příjemnost perlivosti	Celková intenzita pachutí	Celkové hodnocení
1	61,8±17,4	68,4±15,6	49,8±30,9	19,3±13,4	37,2±18,7	9,4±11,5	36,7±31,8	<b>48,3±25,6</b>
2	54,8±17,1	66,1±15,3	61,4±21,9	16,3±9,4	31,3±15,7	11,2±11,7	31,8±29,2	<b>44,0±25,4</b>
3	67,3±20,0	66,6±12,9	61,1±26,6	19,3±17,0	49,8±23,1	9,7±11,4	30,1±30,6	<b>57,0±27,2</b>
4	69,5±17,6	72,8±16,6	62,4±19,2	20,9±14,6	19,1±8,4	10,3±10,4	39,8±19,8	<b>28,6±13,3</b>
5	78,6±14,3	70,7±14,8	70,7±22,8	23,8±15,8	40,4±15,7	8,4±11,8	35,8±20,2	<b>46,3±18,8</b>
6	71,1±18,1	75,5±16,0	66,7±24,4	22,7±14,9	27,9±12,8	8,6±9,9	37,2±18,7	<b>41,8±21,1</b>

Graf 21: Sensorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*



Z Tabulky 17 je vidět, že v celkovém hodnocení nejlépe dopadl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující tekutou kulturu *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, bez 100% pomerančové šťávy s 2 % sacharosu a kyselinou citronovou. Druhým nejlépe hodnoceným nápojem byl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující tekutou kulturu *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* a kyselinu citronovou. Nejhůře dopadl vzorek, který obsahoval 100% pomerančovou šťávu, kyselinu citronovou a byl bez přídavku sacharosu.

Pomocí podrobnějšího zobrazení analýzy rozptylu bylo zjištěno, že se mezi sebou ve sledovaném znaku (celkový vzhled) statisticky významně nelišily vzorky 1, 2, 3, 4, 6, a 1, 3, 4, 5, 6. Vzorky 2 a 5 se naopak mezi sebou statisticky významně lišily, viz Samostatná Příloha XII. Ve sledovaném znaku (celková příjemnost chuti) se mezi sebou statisticky významně nelišily vzorky 1, 2, 4, 6, dále 1, 2, 5, 6, a 1, 2, 3, 5. Například vzorky 3 a 4 se mezi sebou statisticky významně lišily (Samostatná příloha XIII). Naopak se mezi sebou statisticky významně nelišily (nebyla přijata alternativní hypotéza) vzorky v deskriptorech příjemnost barvy, příjemnost vůně, viskozita, příjemnost perlivosti a celková intenzita pachutí.

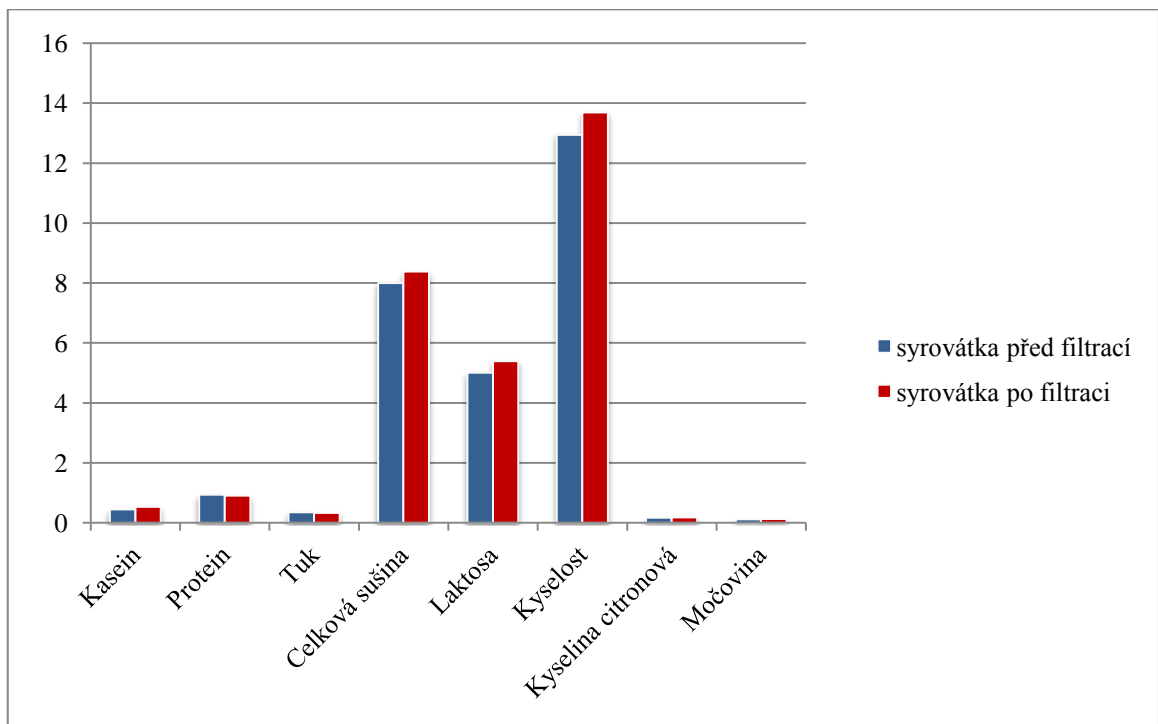
#### **5.4 Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora)**

##### **5.4.1 Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora)**

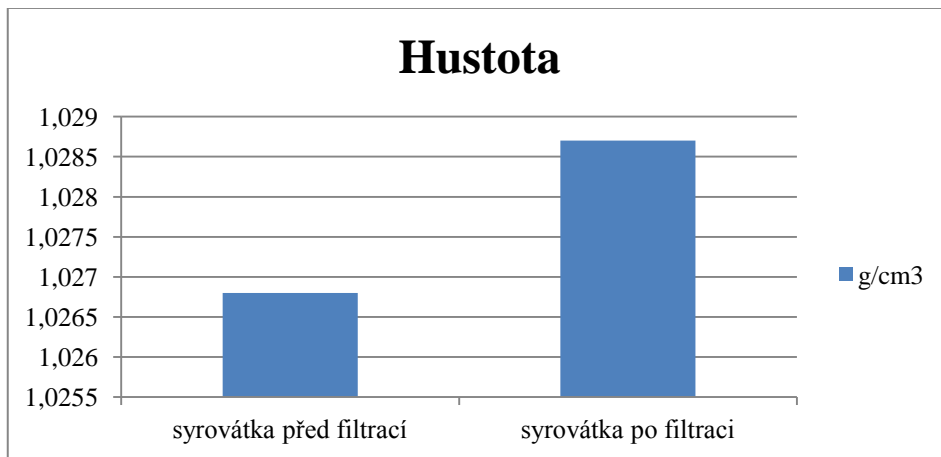
Rozdíly ve složení kyselá kravská syrovátka před filtrací a po filtraci znázorňuje Graf 22. Kyselá kravská syrovátka před tepelným ošetřením a filtrací obsahovala 0,45 % kaseinu, 0,94 % bílkovin, 0,35 % tuku, 5,01 % laktosu a 8,00 % celkové sušiny. Následně po tepelném ošetření a filtraci kyselá kravská syrovátka obsahovala 0,54 % kaseinu, 0,91 % bílkovin, 0,33 % tuku, 5,40 % laktosu a 8,39 % celkové sušiny. Hustotu kyselá kravská syrovátka znázorňuje Graf 23. Nejvyšší hodnotu hustoty měla v tomto případě kyselá kravská syrovátka po filtraci.

Složení a hustotu fermentovaných syrovátkových nápojů obsahujících kulturu vinných kvasinek Vinflora znázorňuje Graf 24 a Graf 25.

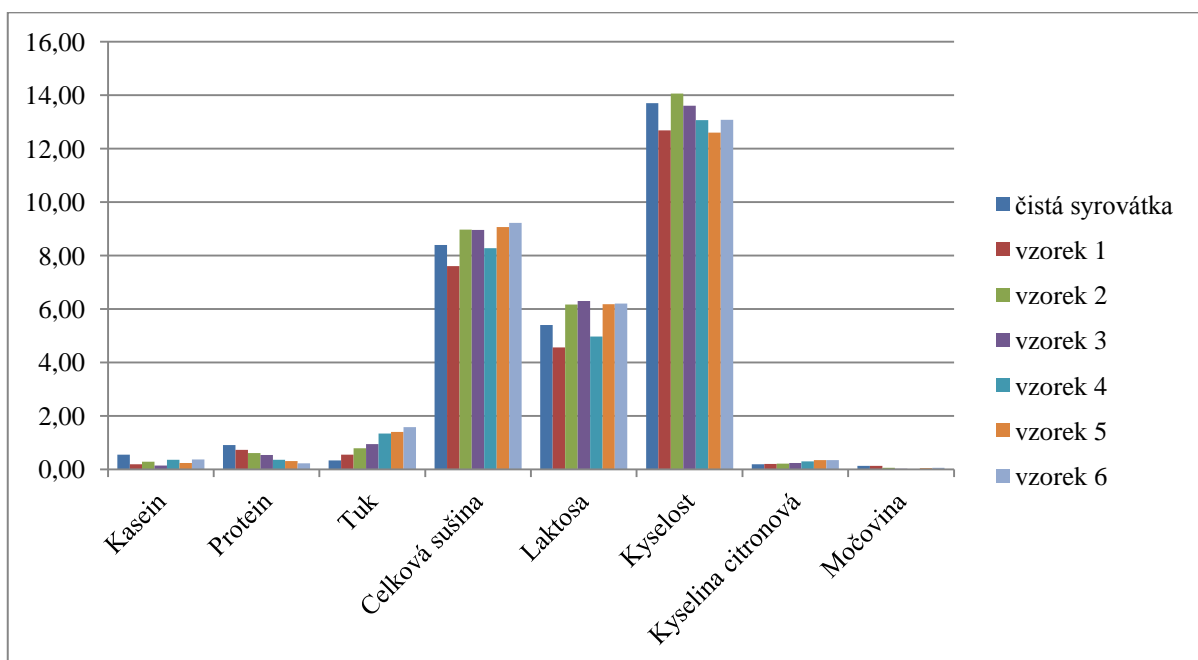
Graf 22: Složení kyselé kravské syrovátky



Graf 23: Hustota kyselé kravské syrovátky

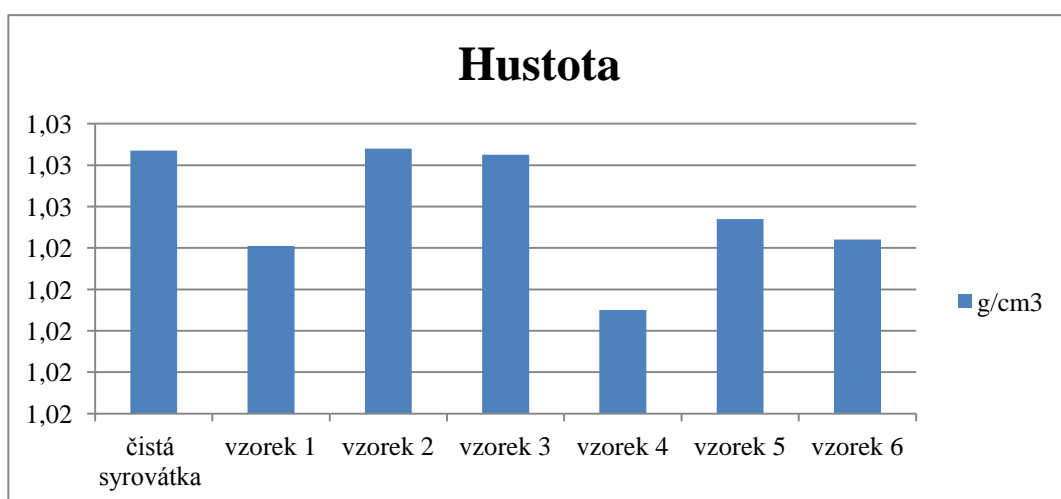


Graf 24: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora)



U všech vzorků s vinnou kulturou došlo ke zvýšení obsahu tuku (0,54 – 1,58 % z původní hodnoty 0,33 %) a ke zvýšení obsahu kyseliny citronové (0,20 – 0,35 % z původní hodnoty 0,19 %). Dále došlo u fermentovaných vzorků 1 – 6 ke snížení obsahu proteinu (0,22 – 0,73 % z původní hodnoty 0,91 %), ke snížení obsahu kaseinu (0,14 – 0,36 % z původní hodnoty 0,54 %). Množství laktosy a celkové sušiny bylo proměnlivé.

Graf 25: Hustota fermentovaných syrovátkových vzorků (vinné kvasinky Vinflora)



Hodnoty měřené hustoty vzorků 1 – 6 byly vůči hodnotě hustoty kyselé kravské syrovátky (před fermentací) proměnlivé. Vzorky 2 a 3 (obohacené sacharosou) a vzorky 5 a 6



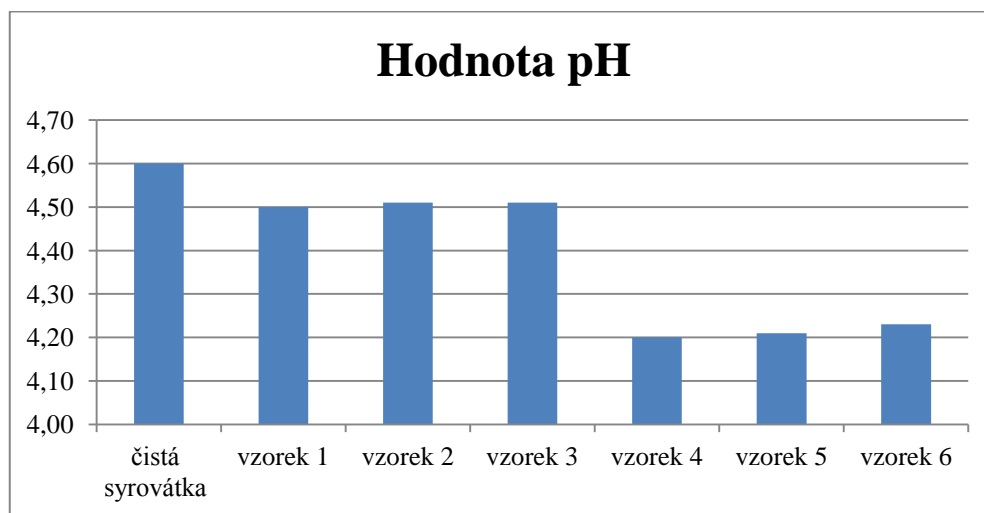
(obohacené sacharosou a 100% pomerančovou šťávou) měly vyšší hustotu než vzorek 1 (bez sacharosy a 100% pomerančové šťávy) a vzorek 4 (s 100% pomerančovou šťávou a bez sacharosy).

#### 5.4.2 Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti

Hodnoty aktivní kyselosti byly měřeny po jednom dni skladování při teplotě 6 – 8 °C.

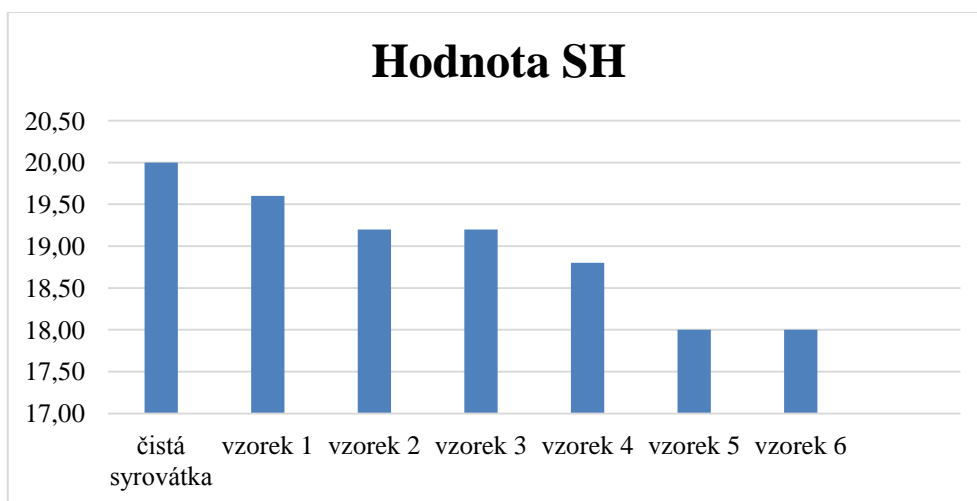
Graf 26 a 27 zobrazuje hodnoty aktivní a titrační kyselosti jednotlivých vzorků v porovnání s kyselou syrovátkou před fermentací

Graf 26: Hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora)



Z grafu 26 lze zjistit, že nejnižší aktivní kyselost mají vzorky s přidavkem 100% pomerančové šťávy, a to okolo 3,85 – 3,93 pH. Naopak vyšší aktivní kyselostí se vyznačují vzorky bez přidavku 100% pomerančové šťávy.

Graf 27: Hodnota titrační kyselosti



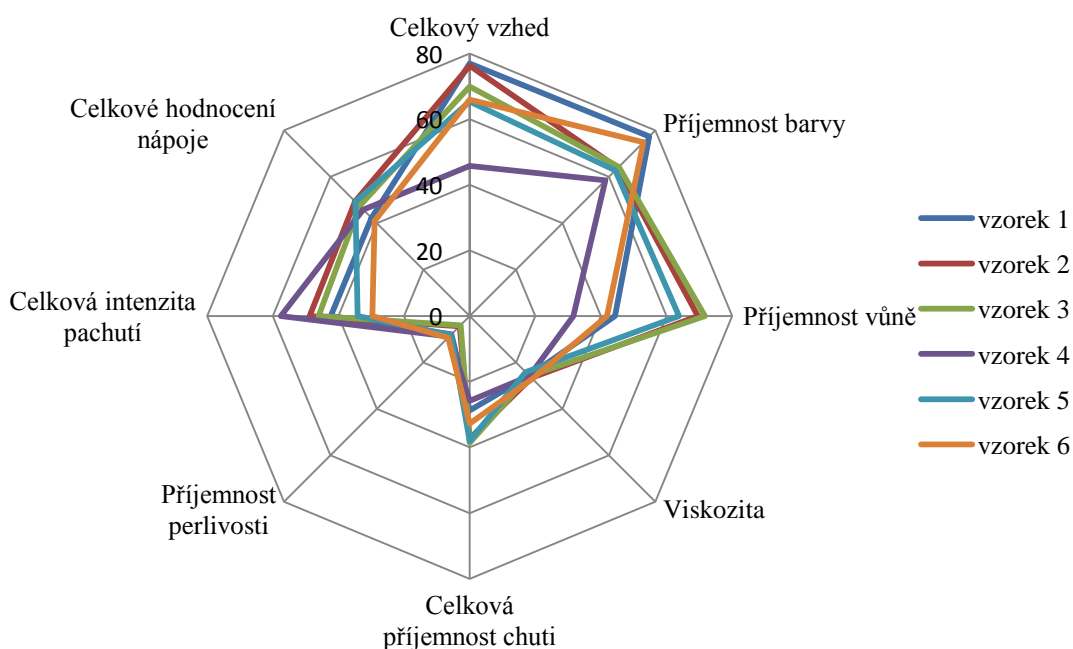
Z Grafu 27 lze zjistit, že hodnoty titrační kyselosti vzorků 1 - 6 se pohybovaly v rozmezí 18,00 – 19,60 SH. Celkově u všech vzorků došlo k poklesu titrační kyselosti.

#### 5.4.3 Výsledky sensorického hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora)

Tabulka 18: Výsledky sensorického hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující vinné kvasinky Vinflora

Vzorek	Celkový vzhled	Příjemnost barvy	Příjemnost vůně	Viskozita	Celková příjemnost chuti	Příjemnost perlivosti	Celková intenzita pachutí	Celkové hodnocení
1	77,0±9,7	77,4±8,3	44,3±22,0	25,6±26,6	28,7±22,3	7,8±12,2	42,3±25,1	<b>42,3±24,6</b>
2	76,3±9,3	63,6±7,9	69,5±23,0	26,6±27,0	37,3±22,0	4,3±6,8	48,8±22,2	<b>49,4±16,7</b>
3	70,0±10,1	64,3±11,6	71,7±20,4	25,7±26,1	38,6±18,2	3,9±5,9	46,0±17,8	<b>47,5±15,4</b>
4	45,8±20,9	58,5±25,5	31,6±21,7	25,8±26,3	25,8±26,7	8,8±10,3	57,5±31,3	<b>45,9±27,0</b>
5	65,4±12,4	62,8±16,1	63,8±22,4	24,1±27,2	38,0±22,9	8,1±12,2	34,1±24,1	<b>49,3±27,8</b>
6	66,0±22,0	74,9±14,5	41,8±28,8	27,0±26,0	32,7±23,6	9,3±12,6	29,7±26,7	<b>41,0±23,3</b>

Graf 28: Sensorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující vinné kvasinky Vinflora



Z Tabulky 18 je zřejmé, že v celkovém hodnocení nejlépe dopadl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující tekutou kulturu vinných kvasinek Vinflora, bez 100% pomerančové šťávy s 1,5 % sacharosy a kyselinou citronovou, dále nápoj obsahující 100% pomerančovou šťávu s 1,5 % sacharosy a kyselinou citronovou. Celkově byly vzorky 1 – 6 v sensorické analýze (v deskriptoru celkový vzhled) hodnoceny podobně.

Pomocí podrobnějšího zobrazení analýzy rozptylu bylo zjištěno, že se mezi sebou ve sledovaném znaku (celkový vzhled) statisticky významně nelišily vzorky 1, 2, 3, 5, 6. Vzorky 1 a 5 se naopak mezi sebou statisticky významně lišily, viz Samostatná příloha XIV. Ve sledovaném znaku (příjemnost vůně) se statisticky významně nelišily vzorky 1, 2, 5, 6, dále 1, 2, 3, 5 a 1, 4, 6. Vzorky 2 a 4 se mezi sebou statisticky významně lišily (Samostatná příloha XV). Naopak se mezi sebou statisticky významně nelišily (nebyla přijata alternativní hypotéza) vzorky v deskriptorech příjemnost barvy, viskozita, celková příjemnost chuti, příjemnost perlivosti, celková intenzita pachutí a celkové hodnocení nápoje, proto nebylo provedeno podrobnější vyhodnocení – Tukeyho metoda.

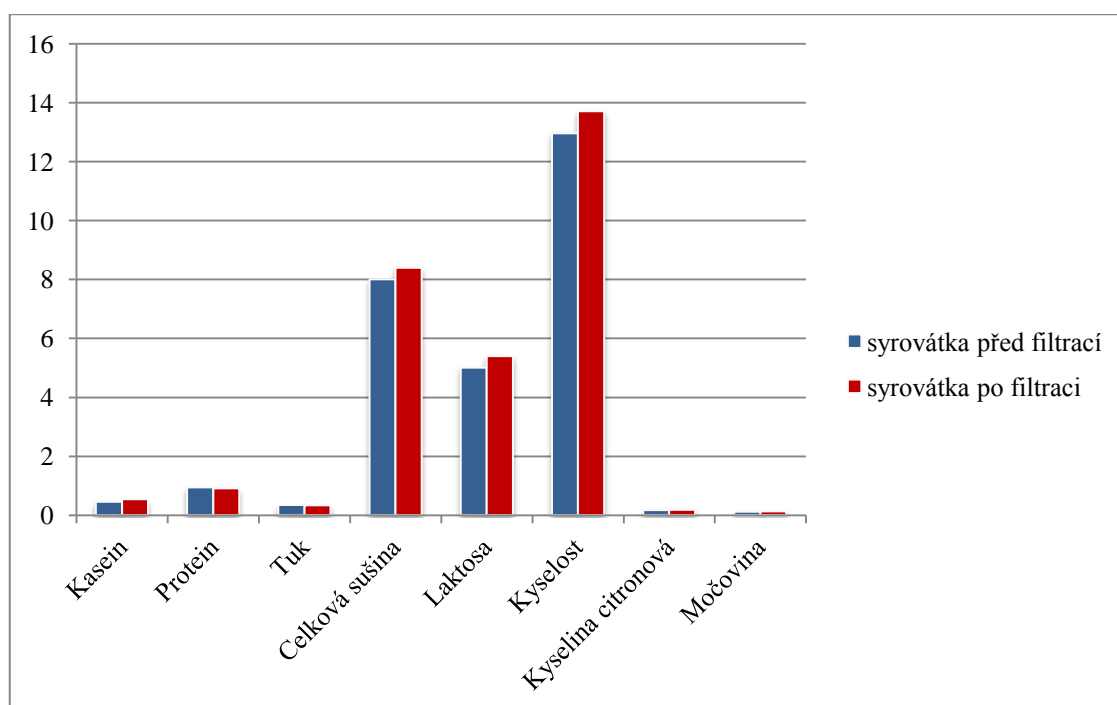
## 5.5 Výsledky hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (*Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*)

### 5.5.1 Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (*Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*)

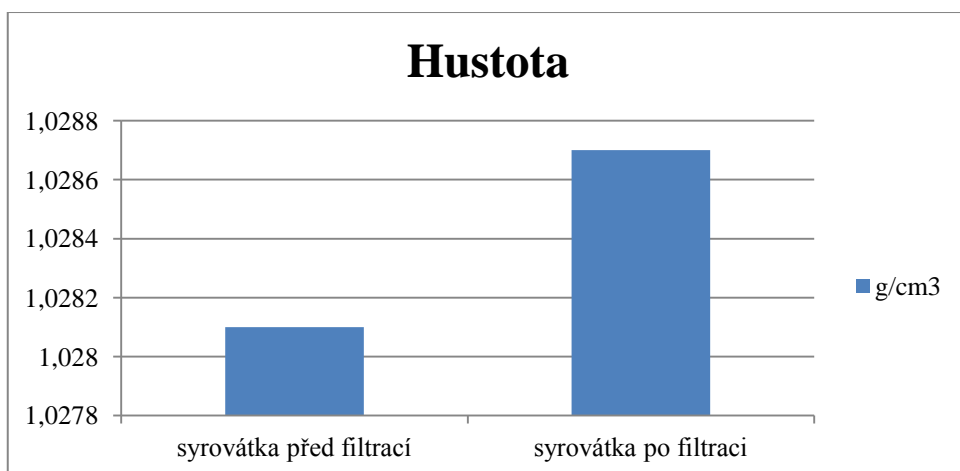
Rozdíly ve složení kyselá kravská syrovátka před filtrací a po filtraci znázorňuje Graf 29. Kyselá kravská syrovátka před tepelným ošetřením a filtrací obsahovala 0,45 % kaseinu, 0,94 % bílkovin, 0,35 % tuku, 5,01 % laktosu a 8,00 % celkové sušiny. Následně po tepelném ošetření a filtraci kyselá kravská syrovátka obsahovala 0,54 % kaseinu, 0,91 % bílkovin, 0,33 % tuku, 5,40 % laktosu a 8,39 % celkové sušiny. Hustotu kyselá kravská syrovátka znázorňuje Graf 30. Nejvyšší hodnotu hustoty měla v tomto případě kyselá kravská syrovátka po filtraci.

Složení a hustotu fermentovaných syrovátkových nápojů obsahujících sušenou kulturu *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis* znázorňuje Graf 31 a Graf 32.

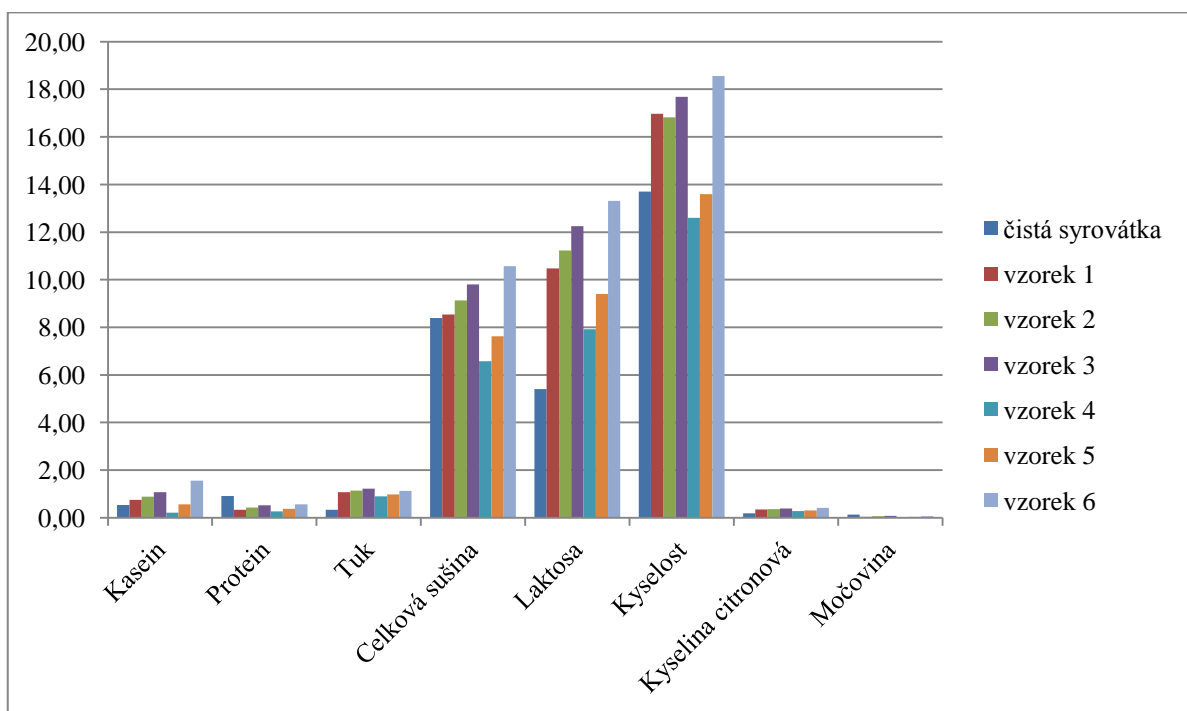
Graf 29: Složení kyselá kravská syrovátka



Graf 30: Hustota kyselé kravské syrovátky

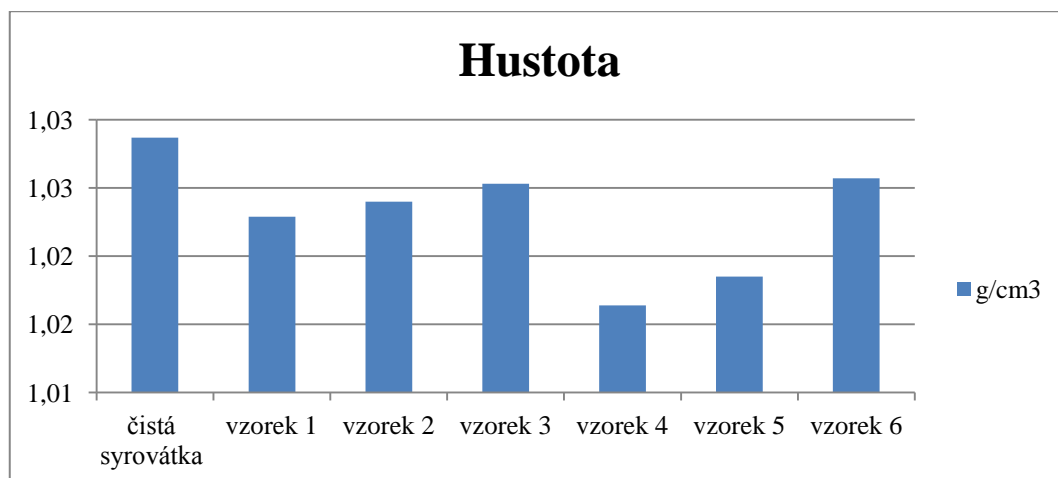


Graf 31: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů - vzorků (*Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*)



U všech vzorků obsahujících sušenou kulturu pивních kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis* došlo ke zvýšení obsahu tuku (0,90 – 1,22 % z původní hodnoty 0,33 %), ke zvýšení obsahu kyseliny citronové (0,28 – 0,42 % z původní hodnoty 0,19 %) a ke zvýšení obsahu laktosy (7,92 – 13,31 % z původní hodnoty 5,40 %). Dále došlo u fermentovaných vzorků 1 – 6 ke snížení obsahu proteinu (0,27 – 0,57 % z původní hodnoty 0,91). Množství kaseinu a celkové sušiny ve vzorcích bylo proměnlivé.

Graf 32: Hustota fermentovaných syrovátkových nápojů - vzorků (*Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*)



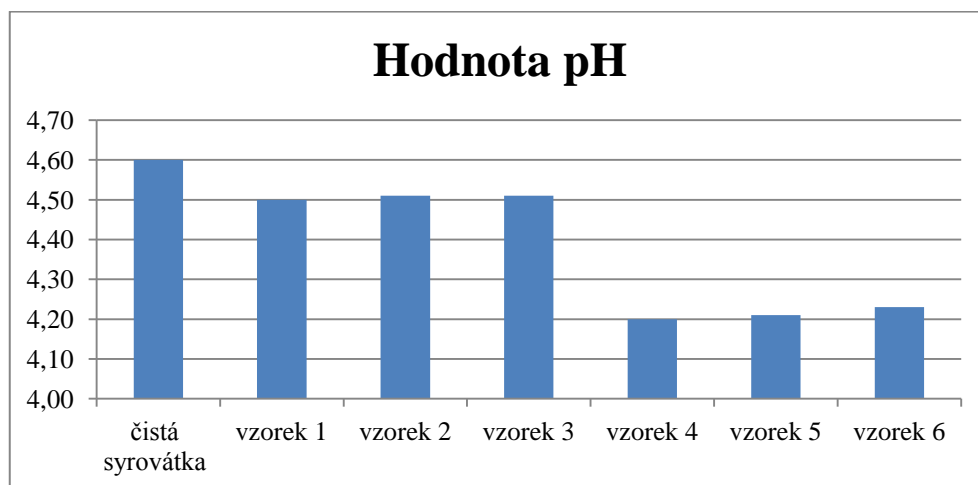
Hodnoty měřené hustoty vzorků 1 – 6 byly vůči hodnotě hustoty kyselé kravské syrovátky (před fermentací) proměnlivé. Celkově u všech vzorků došlo k poklesu měřené hustoty.

### 5.5.2 Výsledky aktivní kyselosti a titrační kyselosti

Hodnoty aktivní kyselosti byly měřeny po jednom dni skladování při teplotě 6 – 8 °C.

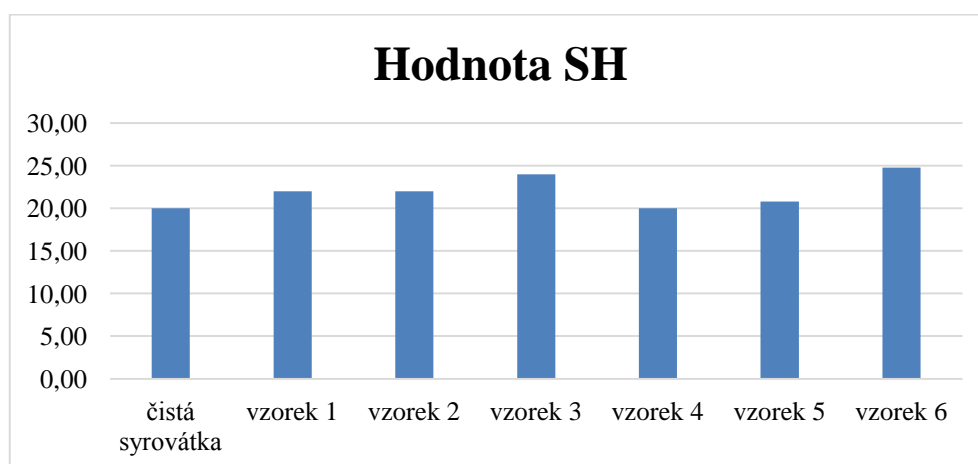
Graf 33 a 34 zobrazuje hodnoty aktivní a titrační kyselosti jednotlivých vzorků v porovnání s kyselou syrovátkou před fermentací

Graf 33: Hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů (*Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*)



Z Grafu 33 lze zjistit, že nejnižší aktivní kyselost mají vzorky s přidavkem 100% pomerančové šťávy, a to okolo 4,20 – 4,23 pH. Naopak vyšší aktivní kyselostí se vyznačují vzorky bez přidavku 100% pomerančové šťávy.

Graf 34: Hodnota titrační kyselosti



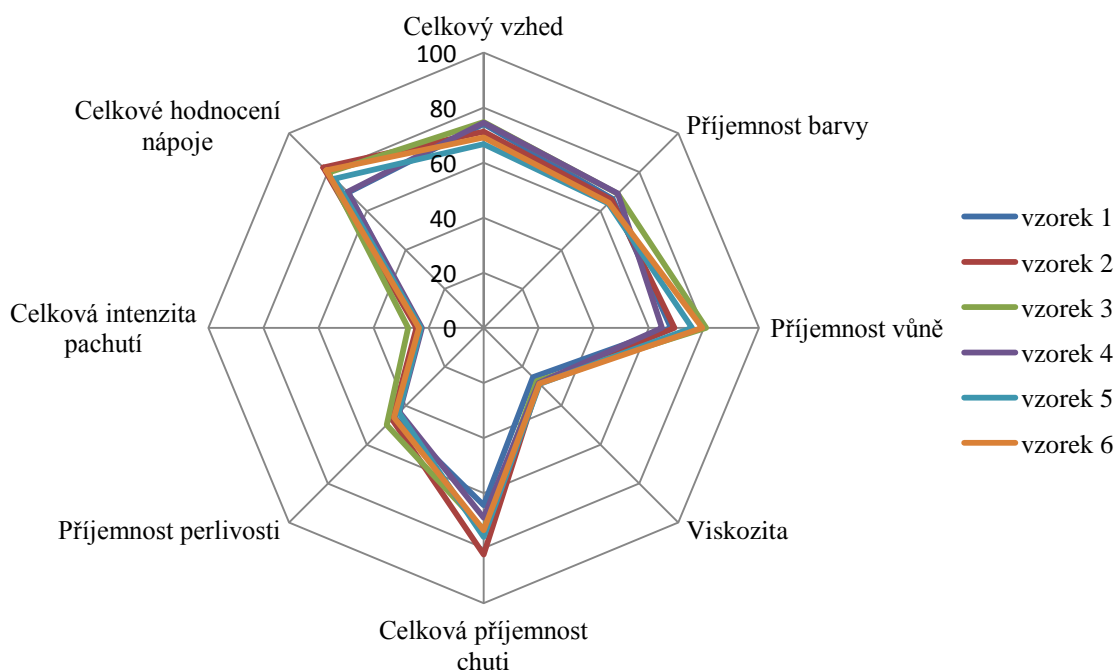
Z Grafu 34 lze zjistit, že hodnoty titrační kyselosti vzorků 1 - 6 se pohybovaly v rozmezí 20,00 – 24,80 SH. Celkově u všech vzorků došlo ke zvýšení titrační kyselosti, výjimkou byl vzorek 4, u kterého naopak došlo ke snížení titrační kyselosti.

### 5.5.3 Výsledky senzoričkého hodnocení fermentovaných syrovátkových nápojů (*Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*)

Tabulka 19: Výsledky senzoričkého hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*

Vzorek	Celkový vzhled	Příjemnost barvy	Příjemnost vůně	Viskozita	Celková příjemnost chuti	Příjemnost perlivosti	Celková intenzita pachutí	Celkové hodnocení
1	74,0±13,4	66,3±18,7	68,0±23,1	25,4±18,3	64,4±28,4	45,9±28,2	23,2±24,4	<b>69,5±20,7</b>
2	71,3±12,9	65,8±18,3	69,3±27,8	28,3±21,1	82,3±17,0	47,0±26,5	24,4±24,2	<b>82,3±16,1</b>
3	74,7±14,6	68,9±21,2	80,8±18,6	27,4±19,9	73,3±22,9	49,8±26,3	27,4±26,8	<b>79,7±16,5</b>
4	74,5±17,5	69,0±21,0	64,8±25,4	28,3±21,0	69,0±23,8	43,2±23,6	22,4±22,5	<b>69,8±21,2</b>
5	66,7±14,9	64,0±18,2	75,7±23,3	28,8±21,7	76,0±24,1	43,5±22,5	22,8±22,9	<b>76,6±22,4</b>
6	69,2±14,0	64,3±17,7	79,4±18,6	28,6±21,3	73,5±28,3	46,0±24,0	23,5±23,6	<b>80,8±20,5</b>

Graf 35: Senzorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*



Z Tabulky 19 vyplývá, že v celkovém hodnocení nejlépe dopadl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující sušenou kulturu *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*, bez 100% pomerančové šťávy s 1,5 % sacharosy a s kyselinou citronovou, dále nápoj



obsahující 100% pomerančovou šťávu s 2 % sacharosy a kyselinou citronovou. Celkově byly všechny předkládané vzorky velmi pozitivně hodnoceny.

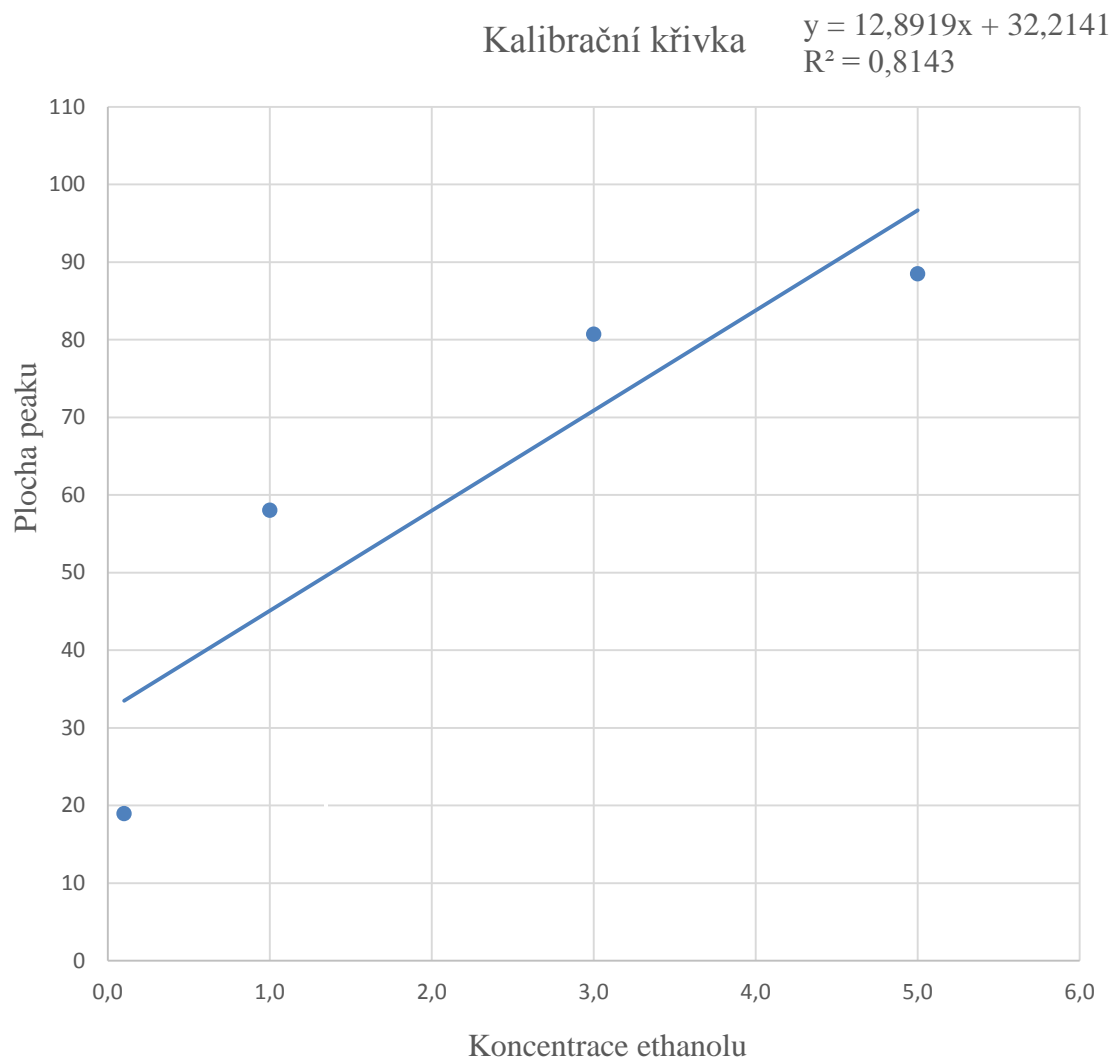
Pomocí podrobnějšího zobrazení analýzy rozptylu bylo zjištěno, že se vzorky mezi sebou ve sledovaném znaku: celkový vzhled, příjemnost barvy, příjemnost vůně, viskozita, celková příjemnost chuti, příjemnost perlivosti, celková intenzita pachutí, celkové hodnocení nápoje statisticky významně nelišily. Hodnota  $p$  byla vždy výrazně vyšší než stanovená hodnota  $\alpha = 0,05$ , nebyla přijata alternativní hypotéza, což znamená, že se průměry statisticky významně nelišily, a proto nebylo provedeno podrobnější vyhodnocení – Tukeyho metoda.

### **5.6 Výsledky stanovení ethanolu ve vzorcích pomocí plynové chromatografie**

Stanovení koncentrace (obsahu) alkoholu – ethanolu ve vzorcích bylo provedeno pomocí plynové chromatografie. Koncentrace ethanolu byly kvantifikovány pomocí kalibrační křivky v různých koncentracích ethanolu, viz Graf 36. Každý vzorek byl na plynovém chromatografu proměřen celkem 2 krát (například vzorek 1 – a k němu druhé opakování). Pomocí plochy peaku jednotlivých vzorků byla zjištěna koncentrace ethanolu ve vzorcích. Retenční čas ethanolu byl v průměru v 1,487 minutě.

Získané hodnoty ukázaly, že ethanol obsahovaly syrovátkové nápoje fermentované tekutou kulturou *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, fermentované tekutou kulturou vinných kvasinek Vinflora a sušenou kulturou *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*, viz Tabulka 20, 21, 22. Syrovátkové nápoje obsahující jogurtovou a kefirovou kulturu ethanol neobsahovaly, plochy peaků byly pod mezí detekce.

Graf 36: Kalibrační křivka



Tabulka 20: Koncentrace alkoholu - ethanolu ve vzorcích obsahujících *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*

Vzorek	Plocha peaku vzorku (průměr)	Koncentrace ethanolu (% obj.)	Koncentrace ethanolu (% obj.) průměr ± sm. odch.
<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i>			
Vzorek 1	83,801	4,0	<b>3,61 ± 0,56</b>
Vzorek 1 opakování	73,628	3,21	
Vzorek 2	76,623	3,44	<b>3,18 ± 0,37</b>
Vzorek 2 opakování	69,761	2,91	
Vzorek 3	66,171	2,63	<b>2,92 ± 0,40</b>
Vzorek 3 opakování	73,463	3,20	
Vzorek 4	83,676	3,99	<b>3,93 ± 0,10</b>
Vzorek 4 opakování	82,056	3,87	
Vzorek 5	86,838	4,24	<b>4,17 ± 0,99</b>
Vzorek 5 opakování	85,003	4,09	
Vzorek 6	87,657	4,30	<b>4,30 ± 0,00</b>
Vzorek 6 opakování	87,683	4,30	

Tabulka 21: Koncentrace alkoholu - ethanolu ve vzorcích obsahujících Vinné kvasinky Vinflora

<b>Vzorek</b>	<b>Plocha peaku vzorku (průměr)</b>	<b>Koncentrace ethanolu (% obj.)</b>	<b>Koncentrace ethanolu (% obj.) průměr ± sm. odch.</b>
<b>Vinné kvasinky Vinflora</b>			
Vzorek 1	76,037	3,40	<b>3,45 ± 0,06</b>
Vzorek 1 opakování	77,188	3,49	
Vzorek 2	82,862	3,93	<b>4,05 ± 0,17</b>
Vzorek 2 opakování	85,943	4,17	
Vzorek 3	75,885	3,39	<b>3,88 ± 0,69</b>
Vzorek 3 opakování	88,370	4,36	
Vzorek 4	58,026	2,00	<b>2,68 ± 0,96</b>
Vzorek 4 opakování	75,471	3,36	
Vzorek 5	72,452	3,12	<b>3,37 ± 0,35</b>
Vzorek 5 opakování	78,803	3,61	
Vzorek 6	75,782	3,38	<b>3,57 ± 0,26</b>
Vzorek 6 opakování	80,734	3,76	

Tabulka 22: Koncentrace alkoholu - ethanolu ve vzorcích obsahujících *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*

<b>Vzorek</b>	<b>Plocha vzorku (průměr)</b>	<b>Koncentrace ethanolu (% obj.)</b>	<b>Koncentrace ethanolu (% obj.) průměr ± sm. odch.</b>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i>			
Vzorek 1	78,767	3,61	<b>3,62 ± 0,01</b>
Vzorek 1 opakování	79,045	3,63	
Vzorek 2	77,507	3,51	<b>3,60 ± 0,14</b>
Vzorek 2 opakování	79,620	3,68	
Vzorek 3	77,566	3,52	<b>3,55 ± 0,04</b>
Vzorek 3 opakování	78,174	3,57	
Vzorek 4	81,235	3,80	<b>3,74 ± 0,01</b>
Vzorek 4 opakování	79,508	3,67	
Vzorek 5	80,525	3,75	<b>3,53 ± 0,05</b>
Vzorek 5 opakování	74,804	3,30	
Vzorek 6	69,928	2,93	<b>2,91 ± 0,01</b>
Vzorek 6 opakování	69,311	2,88	

## 6 Diskuse

Převážná část výzkumů, které se zabývají syrovátkou, se zaměřují nejen na její vlastní zpracování, ale i na flavour finálního výrobku (Gallardo-Escamilla et al., 2005a). Ve svém experimentu jsem se zaměřila na návrh fermentovaného syrovátkového nápoje z kyselé kravské syrovátky.

Paul et al., (2002) ve své práci čerstvou syrovátku tepelně ošetřili při 95 °C po dobu 30 minut. Ve své práci jsem též použila tepelné ošetření syrovátky při 90 – 95 °C po dobu 90 minut, ve vodní lázni, aby došlo k denuraci a vysrážení bílkovin. Dragone et al., (2009) například pasterovali sladkou syrovátku při teplotě 65 °C po dobu 20 minut za použití deskového výměníku.

Zadow (2003) uvádí, že kyselá syrovátka má kyselost větší než 0,40 % kyseliny mléčné a pH nižší než 5,0. I Suková (2006) uvádí, že pH kyselé syrovátky je nižší než 5,1. Pro svůj experiment jsem používala kyselou kravskou syrovátku, která měla aktivní kyselost mezi 4,55 - 4,60. Kosikowski et Wzorek (1977), Mann (1999) uvádějí, že kyselost syrovátkových nápojů bývá upravena pomocí kyseliny citronové.

Před fermentací bylo u všech vzorků upraveno pH pomocí kyseliny citronové. U vzorků bez 100% pomerančové šťávy bylo pH standardně upraveno na hodnotu 4,50 a vzorky se 100% pomerančovou šťávou byly standardně okyseleny na pH 4,20. Například Kosikowski et Wzorek (1977), kteří se ve své práci zabývali přípravou „syrovátkového vína“, přidávali do fermentačního substrátu (ze syrovátkového permeátu) kyselinu citronovou do okyselení pH 4,50.

Z výsledků lze zjistit, že nejnižší aktivní kyselost vykazovaly vzorky s přidavkem 1% roztoku kyseliny citronové a 100% pomerančové šťávy z důvodu předchozího záměrného okyselení před fermentací na pH 4,20. Naopak nejvyšší aktivní kyselostí se vyznačovaly vzorky, které nebyly ochuceny 100% pomerančovou šťávou. U těchto vzorků byla aktivní kyselost před fermentací snížena kyselinou citronovou (1% roztok) na hodnotu pH 4,50. V experimentu, kde byly použity vinné kvasinky Vinflora, došlo u vzorků s přidavkem 1% roztoku kyseliny citronové a 100% pomerančové šťávy po fermentaci, k poklesu pH až na 3,85 – 3,93. Tyto vzorky také vykazovaly nižší hodnoty titrační kyselosti, než měla na počátku čistá, kyselá, nefermentovaná syrovátka, s výjimkou u vzorků „syrovátkové pivo“, u kterých došlo

po fermentaci ke zvýšení titrační kyselosti. Aktivní kyselost 100% pomerančové šťávy dosahovala hodnot 3,79 pH. Aktivní kyselost mladiny byla 5,4 pH.

Sladkost nápojů naopak bývá zlepšována fruktózou, sacharosou, dextrosou nebo enzymatickou hydrolýzou laktosy, která bývá časově náročná a nákladná (Beucler et al., 2005, Perasiriyana et al., 2013).

U všech vzorků s jogurtovou kulturou došlo k nepatrnému snížení obsahu bílkovin (0,64 – 0,85 % z původní hodnoty 0,91 %, kterou vykazovala kyselá syrovátka před fermentací). U těchto vzorků bylo po fermentaci zjištěno, že došlo ke snížení měrné hustoty. Dále u zfermentovaných vzorků bylo zjištěno zvýšení obsahu tuku (0,43 – 0,90 % z původní hodnoty 0,34 %). Množství laktosy, kaseinu a celkové sušiny bylo proměnlivé. U vzorků 1 – 6 došlo k nárůstu množství kyseliny citronové (0,19 – 0,42 % z původní hodnoty 0,19 %).

V experimentu, kde proběhla fermentace pomocí kefirové kultury, došlo ke zvýšení obsahu tuku (0,37 – 0,88 % z původní hodnoty 0,25 %), ke zvýšení obsahu laktosy (5,63 – 6,49 % z původní hodnoty 5,27 %). Dále došlo ke zvýšení celkové sušiny (8,81 – 9,90 % z původní hodnoty 7,97 %) a ke zvýšení obsahu kyseliny citronové (0,23 – 0,38 % z původní hodnoty 0,18 %). Množství kaseinu a proteinu bylo u vzorků 1 – 6 proměnlivé. U vzorků, které byly oslazeny sacharosou (1,5 % a 2 %) a okyseleny 1% roztokem kyseliny citronové a u vzorků se 100% pomerančovou šťávou a sacharosou (1,5 % a 2 %), bylo po fermentaci zjištěno, že došlo k poklesu hustoty. Hustota byla nižší oproti hustotě kyselé syrovátky před fermentací.

U syrovátkových nápojů s tekutou kulturou *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* došlo ke zvýšení obsahu tuku (0,82 – 1,31 % z původní hodnoty 0,35 %) a ke zvýšení obsahu kyseliny citronové (0,24 – 0,36 % z původní hodnoty 0,18 %). Dále došlo u fermentovaných vzorků 1 – 6 ke snížení obsahu proteinu (0,20 – 0,51 % z původní hodnoty 0,90 %), ke snížení obsahu laktosy (3,92 – 5,08 % z původní hodnoty 5,30 %) a ke snížení celkové sušiny (6,03 – 7,03 % z původní hodnoty 8,28 %). Množství kaseinu bylo proměnlivé. Celkově u vzorků s tekutou kulturou *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* byla zjištěna nižší hustota než hustota kyselé syrovátky před fermentací.

U všech vzorků s vinnou kulturou Vinflora došlo ke zvýšení obsahu tuku (0,54 – 1,58 % z původní hodnoty 0,33 %) a ke zvýšení obsahu kyseliny citronové (0,20 – 0,35 % z původní hodnoty 0,19 %). Dále došlo u fermentovaných vzorků 1 – 6 ke snížení obsahu proteinu (0,22

– 0,73 % z původní hodnoty 0,91 %), ke snížení obsahu kaseinu (0,14 – 0,36 % z původní hodnoty 0,54 %). Množství laktosy a celkové sušiny bylo proměnlivé. Proměnlivá byla i hustota těchto vzorků. Vyšší hustota byla pozorována u vzorků obohacených sacharosou (1,5 % a 2 %) a kyselinou citronovou a vzorků se sacharosou (1,5 % a 2 %), 100% pomerančovou šťávou a kyselinou citronovou.

V experimentu, kde byla použita sušená kultura pivních kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis* došlo ke zvýšení obsahu tuku (0,90 – 1,22 % z původní hodnoty 0,33 %), ke zvýšení obsahu kyseliny citronové (0,28 – 0,42 % z původní hodnoty 0,19 %) a ke zvýšení obsahu laktosy (7,92 – 13,31 % z původní hodnoty 5,40 %). Dále došlo u fermentovaných vzorků 1 – 6 ke snížení obsahu proteinu (0,27 – 0,57 % z původní hodnoty 0,91). Množství kaseinu a celkové sušiny ve vzorcích bylo proměnlivé. Proměnlivá byla i hustota těchto vzorků. Vyšší hustota byla pozorována u vzorků obohacených sacharosou (1,5 % a 2 %) a kyselinou citronovou a u vzorků se sacharosou (1,5 % a 2 %), 100% pomerančovou šťávou a kyselinou citronovou.

Zvýšení obsahu kyseliny citronové ve finálním výrobku bylo v důsledku okyselení 1% roztokem kyseliny citronové před následnou fermentací. Během měření laktosy pomocí infračervené spektroskopie bere analyzátor MilcoScan FT 120 Foos v potaz všechny obsažené cukry, které zahrnuje do výpočtu obsahu celkové laktosy. Výsledná hustota je závislá na obsahu vody, tukuprosté sušiny (laktosa, bílkoviny a soli) a tuku. Běžná tekutá syrovátka obsahuje přibližně až 93 % vody a zhruba 50 % celkové sušiny přítomné v mléce. Hlavní složkou sušiny je zde laktosa, která tvoří asi 5 %, dále jsou to bílkoviny, které zaujímají méně než 1 % a v menší míře minerální látky (0,53 %) a tuk (0,36 %) (Beucler et al., 2005). Obecně platí, že zvýšený obsah tuku a přidaná voda hustotu snižuje, naopak laktosa, bílkoviny a minerální látky hustotu zvyšují. V případě stanovení tuku pomocí přístroje MilcoScan FT 120 Foos bylo infračervené záření absorbováno při vlnové délce  $5,73 \cdot 10^{-6}$  m mezi atomy uhlíku a kyslíku v karboxylové skupině mastné kyseliny. Při měření ve vlnové délce  $3,50 \cdot 10^{-6}$  m dochází k absorpci záření mezi skupinami –CH. Obsah celkové sušiny stanovený metodou infračervené spektroskopie se vypočítá jako součet komponent (tuk, bílkoviny a laktosa) nebo může být stanoven na základě absorpce infračerveného záření hydroxylových skupin molekul vody při vlnové délce  $9,3 \cdot 10^{-6}$  m. Sušina 100% pomerančové šťávy byla zhruba 8,53 % a nejspíš ovlivnila celkový obsah sušiny v připravených fermentovaných syrovátkových nápojích obsahující 100% pomerančovou šťávu.



Bayarri et al. (2001) zjistili a popisují, že existuje významný vzájemný vztah mezi intenzitou ovocné chuti a barvou. Bylo zjištěno, že v syrovátkových nápojích s příchutí kiwi, lesních plodů, broskve a pomeranče, barva zvyšovala intenzitu vnímání sladké chuti.

Gallardo-Escamilla et al. (2005a) naopak ve své práci sledovali flavour tekuté sladké syrovátky (z výroby čedaru, goudy a mozarely), flavour syrovátky („rennet casein whey“) vyrobené přidáním syřidla do plnotučného mléka a flavour tekuté kyselé syrovátky (z výroby tvarohů). Mezi jednotlivými vzorky - typy syrovátek byly zjištěny pomocí statistiky statisticky významné rozdíly v chuti. Závěrem této práce bylo, že sladce mléčnou chuť, která je vhodná pro výrobu nápojů a tekutých mléčných produktů má převážně syrovátka pocházející z výroby goudy nebo čedaru, ale i tzv.: „rennet casein whey“.

Djurić et al. (2004) se ve své práci zabývali sensorickou kvalitou syrovátkových nápojů s 4 vybranými příchutěmi a to: pomeranč, broskev, hruška a jablko. Nápoje byly připraveny z laboratorně získané syrovátky. Jako ochucující složky byly použity kyselina citronová a cukr. Nápoje byly tepelně ošetřeny pasterací. Sušina těchto nápojů byla 4 % a 6 %. Údaje získané ze sensorické analýzy byly statisticky vyhodnoceny. Došlo se k závěru, že kvalita u syrovátkových nápojů s příchutí pomeranče a hrušky závisela na obsahu cukru, naopak u syrovátkových nápojů s příchutí jablka a broskve záleželo na sušině ovocné složky. Očekávalo se, že syrovátkový nápoj s příchutí pomeranče bude hodnocen nejlépe, bohužel tomu tak nebylo. Pomerančový nektar nedokázal překrýt, pro někoho nepříjemnou vůni syrovátky. Vůně a barva byla slabá a nevýrazná. Také u tohoto typu nápoje bylo pozorováno určité množství sedimentu. Nakonec byl jako sensoricky nejlepší nápoj vyhodnocen nápoj s příchutí broskve. Tento nápoj obsahoval 2 % cukru, 6 % sušiny a kyselinu citronovou, která upravila kyselost na hodnotu pH 3,6.

Zellner et Durlach (2002) uvádějí, že spotřebitelé hodnotí citrusové a vanilkové aroma, příchutí pomeranče, citronu, jahody a lesních bobulí jako osvěžující, což bývá spojeno i s barvou nápoje. Jelen (2009) pro ochucení syrovátkových nápojů doporučuje příchutí pomeranče, citronu, červeného pomeranče, manga, ale i (pro nás) méně exotické příchutě, jako je jahoda, jablko, malina, hruška a třešeň.

Z výsledků získaných ze sensorické analýzy lze usuzovat, že při celkovém hodnocení byly nejlépe hodnoceny fermentované syrovátkové nápoje, které byly ochuceny buď 100% pomerančovou šťávou a nebo oslazený sacharosou.

Z celkového senzoričkého hodnocení (v rámci jogurtové kultury) nejlépe dopadl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující jogurtovou kulturu, 100% pomerančovou šťávu, 2 % sacharosy a kyselinu citronovou. Druhým nejlépe hodnoceným nápojem byl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující jogurtovou kulturu, 100% pomerančovou šťávu, 1,5 % sacharosy a kyselinu citronovou. Nejhůře dopadl vzorek obsahující pouze jogurtovou kulturu a kyselinu citronovou.

V případě fermentovaného syrovátkového nápoje, který obsahoval keřirovou kulturu, nejlépe v celkovém hodnocení dopadl vzorek obsahující 100% pomerančovou šťávu, 2 % sacharosy a kyselinu citronovou. Druhým nejlépe hodnoceným fermentovaným nápojem v této kategorii byl nápoj s přidavkem 100% pomerančové šťávy s 1,5 % sacharosy a kyseliny citronové. Nejhůře dopadl vzorek obsahující pouze keřirovou kulturu a kyselinu citronovou. Například v Polsku je vyráběn nápoj – syrovátkové perlivé víno jménem „Serwovit“. V tomto případě je syrovátka též fermentována keřirovou kulturou. Serwovit se řadí mezi nápoje s nízkým obsahem alkoholu  $\leq 1,5$  % obj.

V posledních dvou desetiletí bylo vynaloženo úsilí v oblasti výzkumu výroby alkoholických syrovátkových nápojů. Kvasinky *Kluyveromyces fragilis* a *Kluyveromyces marxianus* byly navrženy jako vhodné biokatalyzátory pro výrobu těchto nápojů (Koutinas et al., 2007). Kourkoutas et al., (2002) publikují, že alkoholické nápoje na bázi syrovátky jsou založené na přidání ovocných šťáv, jako je například mango, banán, ananas, guava a jahody, které zvyšují jejich senzoričskou kvalitu. Dragone et al., (2009) se zabývali fermentací syrovátky pomocí *Kluyveromyces marxianus*. Pomocí destilace zjistili, že nápoje fermentované touto kulturou obsahovali kromě ethanolu i vyšší alkoholy (isoamylalkohol, isobutanol, 1-propanol), ethylestery (ethylacetát – celkové aroma), estery mastných kyselin s dlouhým a krátkým řetězcem (květinové a ovocné aroma) a dále byl přítomen methanol a acetaldehyd. Ozmihci et Kargi (2007) uvádějí, že při použití kvasinek *Kluyveromyces marxianus* může být ve fermentovaném syrovátkovém nápoji obsah alkoholu 2,3 – 3,7 % obj. V případě mého experimentu, kde byla použita tekutá kultura *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, v celkovém hodnocení dopadl nejlépe fermentovaný syrovátkový nápoj bez přidavku 100% pomerančové šťávy s 2 % sacharosy a kyselinou citronovou. Druhým nejlépe hodnoceným nápojem byl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující tekutou kulturu *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* a kyselinu citronovou. Nejhůře dopadl vzorek, který obsahoval 100% pomerančovou šťávu, kyselinu citronovou a byl bez přidavku sacharosy.

Dále z výsledků sensorického hodnocení vychází, že v celkovém hodnocení nejlépe dopadl fermentovaný syrovátkový nápoj obsahující tekutou kulturu vinných kvasinek Vinflora, bez 100% pomerančové šťávy s 1,5 % sacharosy a kyselinou citronovou. Dále nápoj obsahující 100% pomerančovou šťávu s 1,5 % sacharosy a kyselinou citronovou. Celkově byly vzorky 1 – 6 v sensorické analýze (v deskriptoru celkový vzhled) hodnoceny podobně. Kosikowski et Wzorek (1977), kteří se zabývali výrobou „syrovátkového vína“, fermentovali syrovátkový permeát (20 - 24 % laktosy v médiu) přibližně 7 až 14 dní při 30 °C. Na začátku víno provzdušňovali (0,25 l vzduchu za minutu). Popisují, že aktivní fermentace byla dokončena za 5 – 7 dní. Nakonec víno ještě upravili kyselinou citronovou na hodnotu pH 4,1 a přidali bentonit v množství 5 g/l. V poslední fázi výroby, „syrovátkové víno“, filtrovali (z důvodu vytvoření sedimentu), stáčeli do láhví a následně skladovali při teplotě 10 °C. Konečný výrobek obsahoval 10 – 12 % obj. alkoholu. Při výrobě syrovátkového vína byla použita ultrafiltrace. V mém experimentu byla použita stejná fermentační teplota po dobu 7 až 14 dní. Před zaočkováním vinnými kvasinkami Vinflora byla do vzorku vždy aplikována živná sůl (hydrogenfosforečnan diamonný, síran amonný) v množství 3,6 g/10 l syrovátky. Nakonec bylo „syrovátkové víno“ přefiltrováno (z důvodu vytvoření sedimentu) a skladováno při 10 °C.

Jednou z nevýhod aplikace ovoce nebo ovocné složky, například v podobě 100% ovocných šťáv je, že v nápoji postupem času během skladování, vzniká sediment, který může vliv i na negativní sensorické hodnocení, jako je například vzhled. Vznik sedimentu je způsoben vzájemným působením, interakcí sušiny ovoce s bílkovinami syrovátky. Na druhou stranu pokud je při výrobě tohoto nápoje použito menší množství ovoce, finální výrobek nemá dobré sensorické vlastnosti, kterými jsou například chuť a vůně (Djurić et al., 2004, Koffi et al., 2005). Z důvodu vytvoření sedimentu se do syrovátkových nápojů přidávají stabilizátory, hydrokoloidy, které stabilizují kasein a snižují riziko vytvoření sedimentu (Jeličić et al., 2008). Nováková (2011) uvádí, že nejvhodnější hydrokoloid je v tomto případě pektin.

Celkově ze všech předkládaných vzorků byly nejlépe sensoricky hodnoceny fermentované syrovátkové nápoje obsahující mladinu a sušenou kulturu *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*. V této kategorii byl nejlépe hodnocen nápoj bez 100% pomerančové šťávy s 1,5 % sacharosy a s kyselinou citronovou, dále nápoj obsahující 100% pomerančovou šťávu s 2 % sacharosy a kyselinou citronovou. pH přidávané mladiny bylo 5,4 (12 % extrakt). Edler (1997) se ve své práci zabývá výrobou alkoholického, pivu podobného nápoje na bázi

syrovátky. Ve svém experimentu využívá k fermentaci kvasinky *Saccharomyces uvarum* a *Kluyveromyces fragilis*. Při prováděných pokusech mísil syrovátku v různých poměrech s mladinou. Na základě výsledků byly vzorky obsahující *Kluyveromyces fragilis* hodnoceny negativně. Naopak pozitivně hodnoceny byly vzorky s kvasinkami *Saccharomyces uvarum*. Autor vysvětluje, že pokud se chceme vyhnout sýrovité příchuti výrobku, nemůže být přídavek syrovátky vyšší než 25 %. Takto vyrobené nápoje nebyly sensoricky hodnoceny, pouze se u nich provedlo interní hodnocení (řadový test). U nápoje, který obsahoval 25 % syrovátky, 75 % mladiny a *Saccharomyces uvarum*, se odhadoval obsah alkoholu na 5,5 % obj.

Hodnoty získané pomocí metody plynové chromatografie ukázaly, že ethanol obsahovaly syrovátkové nápoje fermentované tekutou kulturou *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, fermentované tekutou kulturou vinných kvasinek Vinflora a sušenou kulturou *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*. Syrovátkové nápoje obsahující jogurtovou a keřirovou kulturu ethanol neobsahovaly.

Syrovátkové nápoje obsahující tekutou kulturu *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* obsahovaly od 2,92 – 4,30 % obj. alkoholu (ethanolu). Syrovátkové nápoje obsahující tekutou kulturu vinných kvasinek Vinflora obsahovaly od 2,68 – 4,05 % obj. alkoholu (ethanolu). Syrovátkové nápoje podobné pivu, obsahující sušenou kulturu *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis* obsahovaly od 2,90 – 3,74 % obj. ethanolu.

## 7 Závěr

Mnoho autorů se ve svých pracích a experimentech domnívá, že by fermentace syrovátky mohla vést k celkově lepšímu sensorickému profilu (vůně a chuť). Fermentace syrovátky se jeví jako velice zajímavá alternativa, jak využít tuto žluto-zelenou tekutinu a získat stabilnější výrobek, produkt se zajímavým a výrazným flavourem a vyšší nutriční hodnotou, která je dána nejen obsahem syrovátkových bílkovin.

Prostřednictvím sensorické analýzy byly nejlépe hodnoceny fermentované syrovátkové nápoje obsahující hlavně mladinu a sušenou kulturu *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*.

Pro stanovení alkoholu – ethanolu ve fermentovaných syrovátkových nápojích byla zvolena metoda plynové chromatografie. Bylo zjištěno, že ethanol obsahovaly syrovátkové nápoje fermentované tekutou kulturou *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, fermentované tekutou kulturou vinných kvasinek Vinflora a sušenou kulturou *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum carlsbergensis*. Syrovátkové nápoje obsahující jogurtovou a kefiřovou kulturu ethanol neobsahovaly.

Na závěr bych doporučovala použít při vývoji těchto fermentovaných nápojů dokonalejší laboratorní a analytické metody, který by vedly k přesnějšímu stanovení jednotlivých komponentů například bílkovin, tuku, laktosy a kaseinu. Edler (1997) uvádí, že při předběžné úpravě je vhodné syrovátku zbavit bílkovin. To je možné záhřevem a odstředováním. Ve svém experimentu jsem zvolila pouze záhřev a filtraci. Neoptimálnější metodou by mohla být ultrafiltrace.

Některé práce uvádějí, že při výrobě fermentovaných syrovátkových nápojů je vhodné provést enzymovou hydrolýzu laktosy pomocí enzymového preparátu ( $\beta$  - galaktosidasy). V případě kyselé syrovátky bych doporučila enzymovou hydrolýzu pomocí preparátu Maxilact A4, který má nejvyšší aktivitu při pH syrovátky 4,5 (O. K. Servis BioPro s.r.o.).

Práce vysloveně nesledovala údržnost a mikrobiální kvalitu vyrobených nápojů.

## 8 Seznam použité literatury

- Agarwal, D., P. 2001. Genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes. *Pathol. Biol.* 49. 703-709.
- Bayarri, S., Calvo, C., Costello, E., Duran, L. 2001. Influence of color on perception of sweetness and fruit flavor of fruit drinks. *Food Sci Tech Int.* 7 (5). 399–404.
- Bayford, C. Whey Protein: A Functional Food. *The nutrition practioner* [online]. 2010 [cit. 2014-12-10]. Dostupné z <[http://217.160.4.72/NutritionPractitioner/Issues/Issue\\_11\\_1/Articles/5%20WheyProtein-%20final.pdf](http://217.160.4.72/NutritionPractitioner/Issues/Issue_11_1/Articles/5%20WheyProtein-%20final.pdf)>.
- Beecher, J. W., Drake, M. A., Luck, P. J., Foegeding, E. A. 2008. Factors Regulating Astringency of Whey Protein Beverages. *Journal of Dairy Science.* 91 (7). 2553–2560.
- Benešová, L., Vlková, A., Masáková, L. 1999. *Potravinářské aktuality. Mlékárenský průmysl.* 42 (1). 19-21.
- Beránková, J. Syrovátkové nápoje. *Agronavigátor* . [online]. 26. ledna 2012. [cit. 2014-02-06]. Článek 116963. Dostupné z <<http://www.agronavigator.cz/service.asp?act=print&val=116963>>.
- Berka, V., Průcha, P. 2013. Střídmá konzumace piva a lidské zdraví. *Výživa a potraviny.* 2. 36-38.
- Beucler, J., Drake, M., Foegeding, E. A. 2005. Design of a beverage from whey permeate. *Institute of food Technologists. Journal of food science.* 70 (4). 277-285.
- Bohačenko, I., Pinkrová, J., Peroutková, J., Pechačová, M. 2007. Fermentace směsí laktosy a laktulosity kmenem *Lactobacillus acidophilus*. *Chem. Listy.* 101. 911–915.
- Buccioni, A., Minieri, S., Rapaccini, S. 2013. Effect of total proteoso-peptone content on the variability of bovine milk foaming property. *Italian Journal of Animal Science.* 12 (1). 72-74.
- Burling, H. 2002. *Demineralization.* Elsevier Science 2003, Academic Press. Vol. 4. p. 2745-2751. ISBN: 0-12-2272-35-8.

Castritius, S., Kron, A., Schäfer, T., Rädle, M., Harms, D. 2010. Determination of Alcohol and Extract Concentration in Beer Samples Using a Combined Method of Near-Infrared (NIR) Spectroscopy and Refractometry. *J. Agric. Food Chem.* 58 (24). 12634–12641.

Cruz, A. G, de S.Sant'Ana, A., Macchione, M. M., Teixeira, A. M., Schmidt, F. L. 2009. Milk Drink Using Whey Butter Cheese (queijo manteiga) and Acerola Juice as a Potential Source of Vitamin C. *Food and Bioprocess Technology.* 2 (4). 368-373.

Cryan, R. 2001. Whey: Ready for Takeoff? *U. S. Dairy Mark. Outlook.* 7 (3). 1–4.

Čížková, H., Dostálek, P., Fiala, J., Kolouchová, I. 2006. Význam bílkovin z hlediska pěnivosti a stability pěny piva. *Chem. Listy.* 100. 478–485.

ČSÚ. Spotřeba alkoholických nápojů na 1 obyvatele v České republice. [online]. 2013 [ cit. 2014-08-20]. Také dostupné z <[http://www.czso.cz/csu/dyngrafy.nsf/graf/cr\\_od\\_roku\\_1989\\_alkohol](http://www.czso.cz/csu/dyngrafy.nsf/graf/cr_od_roku_1989_alkohol)>.

Dandarova, E., Gabriel, P., Dienstbier, M., Sladký, P. 1995. Moderní metody a zařízení pro stanovení obsahu alkoholu v pivu. *Kvasný průmysl.* 9 (41). 269-274.

De Keukeleire, D. 2000. Fundamentals of beer and hop chemistry. *Química nova.* 23 (1). 108-112.

de Wit, J. N. 2001. Lecturer's Handbook on whey and whey products. European Whey Products Association Belgie. First edition. [online]. Únor 2011. [cit. 2014-10-20]. Dostupné z <<http://www.euromilk.org/upload/docs/EWPA/Lecturer%27s%20handbook%20on%20Whey.pdf>>.

Demain, A., L., Sanchez, S. 2003. Microbial synthesis of primary metabolites. Current advances and future prospects. *Fermentation mikrobiology and biotechnology.* CRC Press. 2. Edition. p. 99-130. ISBN: 0-8493-5334-3.

Djurić, M., Carić, M., Milanović, S., Tekić, M., Panić, M. 2004. Development of whey based beverages. *European Food Research and Technology.* 219 (4). 321-328.

Dostálová, J., Dlouhý, P., Tláškal, P. Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky. Společnost pro výživu. [online]. 2012 [ cit. 2014-09-09]. Praha. © 2014. Také dostupné z <<http://www.vyzivaspol.cz/rubrika-dokumenty/konecne-zneni-vyzivovych-doporuceni.html>>.

Dostálová, J., Dostálová, J., Horák, T., Záhorský, J. 2009. Analýza konzumace piva vysokoškolských studentů. *Výživa a potraviny*. 2 (64). 35–36.

Dragone, G., Mussatto, S. I., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A. 2009. Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. *Food Chemistry*. 112. 929–935.

Drbohlav, J., Šalaková, A., Sedlařík, V., Nehyba, A., Cicvárek, J. 2009. Využití kyseliny mléčné ze syrovátky pro přípravu polyaktátu a tvorbu biodegradovatelných plastů. *Mlékařské listy*. 115. 13-18.

Dvůr Ratibořice. DoRa. Sydora – syrovátkový nápoj. [online]. 2015 [cit. 2015-01-01]. Dostupné z <<http://www.kozimleko.cz/33/sydora-syrovatkovy-napoj>>.

Edler, N. 1997. Herstellung eines alkoholtigen, bieraehnlichen Molkengetraenks. *Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft*. 118 (19). 828-831.

El – Mansi, E. M., T., Bryce, C., F., A., Hartley, B., S., Demain, A., L. 2007. Fermentation microbiology and biotechnology: an historical perspective. *Fermentation microbiology and biotechnology*. CRC Press. 2. Edition. p. 1-9. ISBN: 0-8493-5334-3.

Escalante, A., Rodríguez, M., E., Martínez, A., López-Munguía, A., Bolívar, F., Gosset, G. 2004. Characterization of bacterial diversity in Pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage, as determined by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiology Letters*. 235. 273–279.

Ethylene glycol metabolism. Methanol. [online]. 2013 [cit. 2014-09-29]. Dostupné z <<http://www.derangedphysiology.com/php/Metabolic-acidosis/images/metabolism%20of%20ethanol.jpg>>.

Etzel, M. R. 2004. Manufacture and use of dairy protein fractions. *Journal of Nutrition*. 134 (4). 996-1002.



- Ferrari, M., Mottola, L., Quaresima, V. 2004. Principles, Techniques, and Limitations of Near Infrared Spectroscopy. *Canadian Journal of Applied Physiology*. 29 (4). 463-487.
- Figler, M., Mořsik, G., Schaffer, B., Gasztonyi, B., Ācs, P., Szili, B., Rab, R., Szakály, S. 2006. Effect of special Hungarian probiotic kefir on fecal microflora, *World J. Gastroenterol*. 21. 1129–1132.
- Foegeding, E. A., Juck, P. J. 2002. *Whey protein products*. Elsevier Science, Academic Press. Vol. 3. p. 1957-1960. ISBN: 0-12-227235-8.
- Gallardo-Escamilla, F. J., Kelly, A. L., Delahunty, C. M. (2005a): Sensory Characteristics and Related Volatile Flavor Compound Profiles of Different Types of Whey. *Journal of Dairy Science*. 88. 2689-2699.
- Gallardo-Escamilla, F. J., Kelly, A. L., Delahunty, C. M. (2005b): Influence of starter culture on flavor and Headspace Volatile Profiles of Fermented Whey and Whey Produced from Fermented Milk. *Journal of Dairy Science*. 88. 3745-3753.
- Gemma, S., Vichi, S., Testai, E. 2006. Individual susceptibility and alcohol effects: Biochemical and genetic aspects. *Ann. Ist. Super. Sanita*. 42. 8-16.
- Gonza'lez-Marti'nez, C., M., Becerra, M. Cha' fer, A., A., Carot, J., M., Chiralt, A. 2002. Influence of substituting milk powder for whey powder on yogurt quality. *Trends Food Sci. Technol*. 13. 334–340.
- Guimarães, P., M., R., Teixeira, J., A., Domingues, L. 2010. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnology Advances*. 28. 375–384.
- Haggarty, N. W. 2002. *Minor Proteins, Bovine Serum Albumin and Vitamin-Binding Proteins*. Elsevier Science, Academic Press. Vol. 3. p. 1939-1946. ISBN: 0-12-227235-8.
- Hajar, R. 2000. Alcohol: friend or foe? A historical perspective. *Heart views*.1 (9). 341-344.
- Hanuřová, J., Němečková, I. 2011. Surovátkové bílkoviny jako surovina pro výrobu funkčních potravin. *Výživa a potraviny*. 6 (66). 142-144.
- Hasík, T. 2013. *Stručná historie (jak to asi bylo s pivem)*. Svět piva a piva světa. Grada Publishing a.s., Praha. s. 13-24. ISBN 978-80-247-8612-4

- Hoffman, J. R., Falvo, M. J. 2004. Protein – Which is best? *Journal of Sports Science and Medicine*. 3. 118-130.
- Holeček, V. 2013. Metanol – toxicita a mechanismus účinku. *Revue České lékařské akademie*. 9. 14–16.
- Chandan, C. R. 2008. *Dairy processing and quality assurance: An Overview*. John Wiley and Sons. Wiley-Blackwell. p. 12-50. ISBN: 978-0-813-82756-8.
- Innocente, N., Comparin, D., Corradini, C. 2002. Proteose-peptone whey fraction as emulsifier in ice-cream preparation. *International Dairy Journal*. 12 (1). 69–74.
- Jayeola, C. O., Omueti, O. 2011. Production and evaluation of soy - chocolate beverage drink. *Journal of cereals and oil seeds*. 2 (4). 57–60.
- Jelen, P. (2003) *Whey Processing in Encyclopedia of Dairy Sciences*, URED: Roginski, H., Fuquay, J. F., Fox, P. F., Academic Press – An Imprint of Elsevier. Vol. 4. p. 2739-2745.
- Jelen, P. 2009. Whey-based functional beverages. *Functional and speciality beverage technology*. p. 259-280. ISBN: 978-1-84569-342-8.
- Jeličić, I., Božanić, R., Tratnik, L. 2008. Whey-based beverages- a new generation of diary products. *Mljekarstvo*. 58 (3). 257-274.
- Johánková, J. 2014. *Senzorická analýza sycených syrovátkových nápojů*. Diplomová práce. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Česká zemědělská univerzita v Praze. s.70.
- Kadaňka, Z. 2013. Jak je to s prospěšností pití malých dávek vína (zejména červeného) pro lidské zdraví. *Revue České lékařské akademie*. 9. 32–34.
- Kalorické tabulky. Syrovátka sušená Bohemilk. [online]. 2014 [cit. 2014-09.01]. Také dostupné z <<http://www.kaloricketabulky.cz/susena-syrovatka---bohemilk/>>.
- Kalorické tabulky. Syrovátka. [online]. 2014 [cit. 2014-09.01]. Také dostupné z <<http://www.kaloricketabulky.cz/syrovatka/>>.
- Kilara, A. 2008. Whey and Whey products. *Dairy processing and quality assurance*. John Wiley and Sons. Wiley-Blackwell . p. 342-360. ISBN: 978-0-813-82756-8.

Koffi, E., Shewfelt, R., Wicker, L. (2005): Storage stability and sensory analysis of UHT processed whey-banana beverages, *Journal of Food Quality*. 28 (4). 386-401.

Kokaisl, P. Čerstvý kumys? Jen nepřátelům! Koktejl, 4. [online]. 2006 [cit. 2014-09-09]. Také dostupné z [http://www.czechpress.cz/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2713:erstvy-kumys-jen-nepatelm-sp-1688771975&catid=1666:2006-04&Itemid=148](http://www.czechpress.cz/index.php?option=com_content&view=article&id=2713:erstvy-kumys-jen-nepatelm-sp-1688771975&catid=1666:2006-04&Itemid=148)>.

Kopáčová, O. Syrovátka v prevenci rakoviny. *Agronavigátor* [online]. 12. října 2001. [cit. 2012-10-15]. Článek 2953. Dostupné z <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=148&ch=13&typ=1&val=2953>>.

Koroleva, N., S. 1991. Products prepared with lactic acid bacteria and yeasts, in *Therapeutic Properties of Fermented Milks*, Robinson, R.K. Ed., Elsevier Applied Science, London. 159–179.

Kourkoutas, Y., Psarianos, C., Koutinas, A., A., Kanellaki, M., Banat, I., M., Marchant, R. 2002. Continuous whey fermentation using kefir yeast immobilized on delignified cellulosic material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50. 2543–2547.

Koutinas, A., A., Athanasiadis, I., Bekatorou, A., Psarianos, C., Kanellaki, M., Agouridis, N., Blekas, G. 2007. Kefir-yeast technology: Industrial scale-up of alcoholic fermentation of whey, promoted by raisin extracts, using kefir-yeast granular biomass. *Enzyme and Microbial Technology*. 41. 576–582.

Krenz, M., Korthuis, R., J. 2012 Moderate ethanol ingestion and cardiovascular protection: from epidemiologic associations to cellular mechanisms. *J Mol Cell Cardiol*. 52 (1). 93-104.

Kresánek, J., Cagaňová, B., Plačková, S. 2009. Otrava alkoholem. *Klinická farmácia v praxi*. 8 (14). 18-20.

Kruse, J., A. 1992. Methanol poisoning. *Intensive Care Med*. 18. 391–397.

Kuo, C., Y. Lin, C., W. 1999. Taiwanese kefir grains: their growth, microbial and chemical composition of fermented milk, *Aust. J. Dairy Sci*. 54. 19–23.

Lanigan, S. 2001. Final report on the safety assessment of methyl alcohol. *Int. J. Toxicol*. 20 (1). 57–85.

Legarová, V., Kouřimská, L. 2010. Sensory quality evaluation of whey-based beverages. *Mljekarstvo*. 60 (4). 280-287.

Lieber, Ch., S. 2005. Metabolism of Alcohol. *Clin Liver Dis*. 9.1–35.

Madeta. Novinka. Syrovátkové nápoje Fitness. [online]. duben 2012. [cit. 2013-03-01]. Dostupné z <<http://www.madeta.cz/cs/produkty-a-sluzby/novinky/syrovatkove-napoje-fitness>>.

Madson, P., W. 2003. Ethanol distillation: the fundamentals. *The Alcohol Textbook 4th Edition*. Nottingham University Press. p. 319-337. ISBN: 1-897676-13-1.

Madureira, A. R., Perreira, C. I., Gomes, A. M. P., Pintado M. E., Malcata, F. X. 2007. Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Research International*. 40. 1197-1211. Dostupné z <<http://repositorio.ucp.pt/bitstream/10400.14/2824/3/Bovine%20whey%20proteins%20overview%20on%20their%20main%20biological%20properties.pdf>>.

Mann, E. 1998. Dairy beverages. *Dairy Ind. Int.* 63 (2). 17-18.

Mann, E. 1999. Dairy beverages. *Dairy Ind. Int.* 64 (8). 14-15.

Manzo-Avalos, S., Saavedra-Molina, A. 2010. Cellular and Mitochondrial Effects of Alcohol Consumption. *Int J Environ Res Public*. 7. p. 4281-4304. ISSN 1660-4601.

Manzo-Avalos, S., Saavedra-Molina, A. Cellular and Mitochondrial Effects of Alcohol [online]. 2010 [cit. 2014-09-29]. © 1996-2014. Dostupné z <<http://www.mdpi.com/1660-4601/7/12/4281/.htm>>.

Marshall, K. 2004. Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review*. 9 (2). 136-156.

Martínková, M. 2014. Toxický účinek metanolu na lidský organismus. *Fyziologie. Vesmír*. 93 (2). 80–83.

Meena, M. K., Arora, S., Shendurse, A. M., Sharma, V., Wadhwa, B. K., Singh, A. K. 2012. Formulation optimisation of a whey lemon beverage using a blend of the sweeteners aspartame and sacharin. *International Journal of Dairy Technology*. 65 (1). 146-151.

Melzoch, K. 2012. Chromatografické separace a výměna iontů. Technologie potravin. Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výroby. VŠCHT. Key Publishing. s. 214-220. ISBN: 978-80-7418-086-6.

Miglioranza, L. H., Matsuo, T., Caballero-Córdoba, G. M., Dichi, J. B., Cyrino, E. S., Oliveira, I. B., Martins, M. S., Polezer, N. M., Dichi, I. 2003. Effect of long-term fortification of whey drink with ferrous bisglycinate on anemia prevalence in children and adolescents from deprived areas in Londrina. *Nutrition*. 19 (5). 419-421.

Mojka, K. 2013. Charakterystyka mlecznych napojów fermentowanych. *Probl Hig Epidemiol*. 94 (4). 722-729.

Moreno, A., Pare's, X. 1991. Purification and characterization of a new alcohol dehydrogenase from human stomach. *J Biochem*. 266 (11). 28-33.

Mukamal, K., J., Jensen, M., K., Grønbaek, M., Stampfer, M., J., Manson, J., E., Pischon, T., Rimm, E., B. 2005. Drinking frequency, mediating biomarkers, and risk of myocardial infarction in women and men. *Circulation*. 112 (10). 1406-1413.

Norberg, A., Jones, A., W., Hahn, R., G., Gabrielsson, J., L. 2003. Role of variability in explaining ethanol pharmacokinetics: Research and forensic applications. *Clin. Pharmacokinet*. 42. 1-31.

Nováková, M., 2011. Senzorická kvalita syrovátkových nápojů. Diplomová práce. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Česká zemědělská univerzita v Praze. 114 s.

O'Keefe, J., H., Bhatti, S., K., Bajwa, A., DiNicolantonio, J., J., Lavie, C., J. 2014. Alcohol and cardiovascular health: the dose makes the poison or the remedy. *Mayo Clin Proc*. 89 (3). 382-393.

O'Regan, J., Ennis, M. P., Mulvihill, D. M., 2009. Milk Proteins. *Handbook of hydrocolloids*. CRC Press. Second Edition. p. 298-343. ISBN (e-book) 978-1-84569-587-3.

Oldřichová, T. Vliv tepelného ošetření na změny syrovátkových bílkovin. *Agronavigátor* [online]. 27. září 2002 [cit. 2013-03-11]. Dostupné z <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=7610&ids=155>>.

- Onwulata, C. I., Huth, P. J. 2008. Separation of  $\beta$ -Lactoglobulin from Whey: Its Physico-Chemical Properties and Potential Uses. *Whey processing Functionality and health benefits*. Wiley-Blackwell IFT PRESS. p. 39-61. ISBN: 978-8138-0903-8.
- Onwulata, C., Tomasula, P. 2004. Whey texturization: A way forward. *Food Technology*. 58 (7). 50-54. ISSN: 0015-6639.
- Ot es, S., Cagindy, O. 2003. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic Aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2 (2). 54-59.
- Ozmihci, S., Kargi, F. 2007. Effects of feed sugar concentration on continuous ethanol fermentation of cheese whey powder solution (CWP). *Enzyme and Microbial Technology*. 41. 876–880.
- Parrondo, J., Herrero, M., García, L. A., Díaz, M. 2003. A note – Production of vinegar from whey. *Journal of the institute of brewing*. 109 (4). 356-358.
- Paul, D., Mukhopadhyay, R., Chatterjee, B., P., Guha, A., K. 2002. Nutritional profile of food yeast *kluveromyces fragilit* biomass grown on whey. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 97. 209-218.
- Perasiriyana, V., Chandrakala, S., Sivakumar, T. 2013. Whey based herbal drink evaluation as health supplement. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences*. 3 (2). 58-62.
- Pescuma, M., Hébert, E. M., Mozzi, F., Font de Valdez, G. 2008: Whey fermentation by thermophilic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*. 25 (3). 442-451.
- Pogačić, T., Šinko, S., Zamberlin, Š., Samaržija, D. 2013. Microbiota of kefir grains. *Mljekarstvo*. 63 (1). 3-14.
- Popov, P. 2003. Závislost na alkoholu. *Psychiatrie pro praxi*. 1. 29-32.
- Prajapati, B., J., Nair, B., M. 2008. The History of Fermented Foods. *Handbook of Fermented Functional Foods Second Edition*. CRC Press. p. 2-22. ISBN: 978-1-4200-5326-5.

- Režek–Jambrak, A., Mason, T. J., Lelas, V., Herceg, Z., Herceg, I. L. 2008. Effect of ultrasound on solubility and foaming properties of whey protein suspensions, *Journal of Food Engineering*. 86 (2). 281-287.
- Rodrigues, K., L., Carvalho, J., C., T., Schneedorf, J., M. 2005. Anti-inflammatory properties of kefir and its polysaccharide extract, *Inflammopharmacology*. 13. 485–492.
- Rokyta, R. 2013. Úvod do problematiky alkoholu. *Revue České lékařské akademie*, 9. 4-5
- Csémy, L., Winkler, P. 2013. Alkohol v České republice: spotřeba, zdravotní škody a ekonomické ztráty společnosti. *Revue České lékařské akademie*. 9. 4-5.
- Roldan, J., Frauca, C., Duenas, A. 2003. Alcohol intoxication [Article in Spanish] *An. Sist. Sanit. Navar*. 26 (1). 129–139.
- Sakhale, B. K., Pawar, V. N., Ranveer, R. C. 2012. Studies on the Development and Storage of Whey based RTS Beverage from Mango cv. Kesar. *Journal of Food Processing & Technology*. 3 (3). 148.
- Sandorová, L., Samková, J., Holejšovský, J., Vodvářka, S. 2006. Droga jménem alkohol. *Biomedicína*. 8. 200-435. 358-365.
- Selhub, J. 2006. The many facets hyperhomocysteinemia. *Studies from the framingham cohorts*. *J. Nutr*. 136. 1726–1730.
- Shah, N. P. 2007. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*. 17 (11). 1262-1277.
- Sharma, R., Marasini, S., Sharma, A., K., Shrestha, J., K., Nepal, B., P. 2012. Methanol Poisoning: Ocular and Neurological Manifestations. *Optometry and Vision Science*. 89 (2). 178-182.
- Schreiber, V. 2004. Současný pohled na stres a endokrinní odpověď. *Interní medicína pro praxi*. 3. 111–114.
- Singh, A. K., Singh, K. 2012. Utilization of whey for the production of instant energy beverage by using response surface methodology. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 4 (2). 103–111.

- Snášelová, J., Marková, M., Vejdová, M. 2002. Vliv tepelného ošetření na změny syrovátkových bílkovin. *Mlékařské listy*. 72. 12-16.
- Solak, B. B., Akin, N. 2012. Functionality of whey protein. *International Journal of Health & Nutrition*. 3 (1). 1-7.
- Sovinová, H. 2006. Konzumace alkoholu v Evropě. *Alkohol v Evropě. Zpráva pro Evropskou unii – Souhrn*. 3-4. [online]. 2006 [cit. 2014-08-20]. Také dostupné z <[http://ec.europa.eu/health-eu/doc/alcoholineu\\_sum\\_cz\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health-eu/doc/alcoholineu_sum_cz_en.pdf)>.
- Spălățelu, C. 2012. Biotechnological valorisation of whey. *Innovative Romanian Food Biotechnology*. 10. 1–8.
- Stanton, P. 2004. Gel filtration chromatography. HPLC of peptides and proteins. *Methods and protocols*. 251. p. 55-73. Online ISBN: 978-1-59259-742-0.
- Stránský, M. 2011. Preventivní účinky kyseliny listové. *Interní Med*. 13 (4). 159–162.
- Suková, I. Kefír a kumys. *Agronavigátor*. Článek 24295. [online]. 2004 [cit. 2014-09-09]. Také dostupné z <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=154&ch=13&typ=1&val=24295>>.
- Suková, I. 2006. Syrovátka v potravinářství. *ÚZPI Praha 2*. s. 5-60. ISBN: 80-7271-173-3.
- Suková, I. Zacházení s keřirovou kulturou. *Agronavigátor*. Článek 70111. [online]. 2008 [cit. 2014-11-11]. Také dostupné z <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=155&ch=13&typ=1&val=70111>>.
- Suková, I. Výživový potenciál syrovátky. *Agronavigátor* [online]. 24. března 2011. [cit. 2012-10-30]. Článek 109394. Dostupné z <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=109394&ids=163>>.
- Šamánek, M., Urbanová, Z. 2011. Jak prospívá střídání pití vína lidskému zdraví? *Interní Med*. 13 (11). 455–456.
- Široký, M. 2006. Otrava Methanolem. *Prevence úrazů, otrav a násilí*. 2. 141-143.
- Štěpničková, O. 2009. Alkoholické nápoje očima historie. *Výživa a potraviny*. 4 (64). 104-107.



- Štěrba, K., Dostálek, P., Karabín, M. 2011. Moderní postupy využívané při přípravě vzorků pro stanovení alkoholů, esterů a kyselin v pivu. *Chem. Listy*. 105. 603-610.
- Táborský, M., Ošťádal, P., Petřek, M., Heinc, P., Václavík, J., Lazárová, M., Vítovec, J. 2010. Máme v současné době dostatek důkazů o kardioprotektivním efektu konzumace mírného množství vína na kardiovaskulární onemocnění? *Kardiol rev.* 12 (4). 192–196.
- Tatarčíková, L. I malé mlékárny mohou konkurovat. *Zemědělec. Živočišná výroba*. 12. 36. [online]. 2007 [cit. 2015-01-01]. Dostupné z <[http://www.ekomilk.cz/files/Zemedelec12\\_2007\\_20070319.pdf](http://www.ekomilk.cz/files/Zemedelec12_2007_20070319.pdf)>.
- Tephly, T., R. 1991. The toxicity of methanol. *Life Sci*. 48. 1031–1041.
- Toyoda, T., Ohtaguchi, K. 2008. Production of ethanol from lactose by *Kluyveromyces lactis* NBRC 1903. Special Edition, November. *Thammasat International Journal of Science and Technology*. 13. 30–35.
- Tratnik, L. J., 2003. Uloga sirutke u proizvodnji funkcionalne mliječne hrane. *Mljekarstvo* 53 (4). 325-352.
- Tunick, H. M. 2008. Whey protein production and Utilization: A brief history. Whey processing, functionality and health benefits. Editors Onwulata I. CH., Huth, J. P. Wiley-blackwell. p. 1-13. ISBN: 978-0-8138-0903-8.
- Urban, M., Syrovátka, J. 2014. Cider – ovocný fermentovaný nápoj. *Výživa a potraviny*. 2. 43-45.
- Wee, Y., J., Kim, J., N., Ryu, H., W. 2006. Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (2). 163–172.
- Xiaobo, Z., Jiewen, Z., Povey, M., J., B., Holmes, M., Hanpin, M. 2010. Variables selection methods in near-infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*. 667 (1–2). 14–32.
- Xie, G., Krnjević, K., Jiang-Hong Ye. 2013. Salsolinol modulation of dopamine neurons. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 7 (52). 1-7.
- Zadow, J. G. 2003. Production and uses. *Encyclopedia of food Science and nutrition*, Elsevier Science Academic Press, second edition, Vol. 10. p 6147–6152. ISBN: 0-12-227055-X.

- Zadrazil, K. 2002. Mlékařství. Česká zemědělská univerzita v Praze a ISV Praha, 1. Vydání. s. 127. ISBN: 80-86642-15-1.
- Zakhari, S. 2006. Overview: How is alcohol metabolized by the body? Alcohol Research & Health. 29 (4). 245-254.
- Zellner, D., A., Durlach, P. 2002. What is refreshing? An investigation of the color and other sensory attributes of refreshing foods and beverages. Appetite. 39. 185–6.
- Zhang, Y., Brew, K. 2002. Alpha-Lactalbumin. Elsevier Science, Academic Press. Vol. 3. p. 1924-1932. ISBN: 0-12-227235-8.
- Zima, T. Pít či nepít alkoholické nápoje? Výživa a potraviny, 4. [online]. 2011 [cit. 2014-08-05]. © 2014 VIZUS. Také dostupné z <<http://www.vyzivapol.cz/clanky-casopis/pit-ci-napit-alkoholicke-napoje.html>>.
- Zima, T. 2013. Etanol – toxicita a mechanismus účinku. Revue České lékařské akademie. 9. 11-13.

## 9 Seznam grafů

Graf 1: Složení kyselé kravské syrovátky.....	61
Graf 2: Hustota kyselé kravské syrovátky .....	61
Graf 3: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (jogurtová kultura) .....	62
Graf 4: Hustota fermentovaných syrovátkových vzorků .....	62
Graf 5: Hodnoty aktivní kyselosti.....	63
Graf 6: Hodnoty titrační kyselosti .....	64
Graf 7 Senzorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující jogurtovou kulturu .....	65
Graf 8: Složení kyselé kravské syrovátky.....	68
Graf 9: Hustota kyselé kravské syrovátky .....	68
Graf 10: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (kefirová kultura) .....	69
Graf 11: Hustota fermentovaných syrovátkových vzorků.....	69
Graf 12: Hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů .....	70
Graf 13: Hodnoty titrační kyselosti .....	70
Graf 14: Senzorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující kefirovou kulturu.....	71
Graf 15: Složení kyselé kravské syrovátky.....	73
Graf 16: Hustota kyselé kravské syrovátky .....	73
Graf 17: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> ) .....	74
Graf 18: Hustota fermentovaných syrovátkových vzorků ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> ) .....	75
Graf 19: Hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> ) .....	76
Graf 20: Hodnota titrační kyselosti.....	76
Graf 21: Senzorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> .....	77
Graf 22: Složení kyselé kravské syrovátky.....	79
Graf 23: Hustota kyselé kravské syrovátky .....	79
Graf 24: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora) .....	80
Graf 25: Hustota fermentovaných syrovátkových vzorků (vinné kvasinky Vinflora) .....	80

Graf 26: Hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů (vinné kvasinky Vinflora).....	81
Graf 27: Hodnota titrační kyselosti.....	82
Graf 28: Senzorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující vinné kvasinky Vinflora.....	83
Graf 29: Složení kyselé kravské syrovátky.....	84
Graf 30: Hustota kyselé kravské syrovátky .....	85
Graf 31: Složení fermentovaných syrovátkových nápojů - vzorků ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> ) .....	85
Graf 32: Hustota fermentovaných syrovátkových nápojů - vzorků ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> ) .....	86
Graf 33: Hodnoty aktivní kyselosti fermentovaných syrovátkových nápojů ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> ) .....	87
Graf 34: Hodnota titrační kyselosti.....	87
Graf 35: Senzorický profil fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> .....	88
Graf 36: Kalibrační křivka.....	90

## 10 Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma membránových procesů.....	26
Obrázek 2: Metabolismus ethanolu .....	37
Obrázek 3: Metabolismus methanolu .....	39
Obrázek 4: Fitness syrovátkové nápoje .....	47
Obrázek 5: Sydora, syrovátkový nápoj.....	48
Obrázek 6: Sušená syrovátka Amálka .....	48
Obrázek 7: Použitá jogurtová a keřírová kultura .....	51
Obrázek 8: Vinné kvasinky Vinflora (tekutá kultura) .....	52

## 11 Seznam tabulek

Tabulka 1: Typické složení (g/l) sladké a kyselé syrovátky.....	15
Tabulka 2: Vitaminové složení sušené syrovátky.....	16
Tabulka 3: Obsah minerálních látek v sladké a kyselé syrovátce.....	16
Tabulka 4: Obsah stopových prvků v syrovátce.....	17
Tabulka 5: Průměrný obsah aminokyselin (mg/l) v syrovátce.....	17
Tabulka 6: Průměrný obsah syrovátkových bílkovin v kravském mléce.....	18
Tabulka 7: Teploty způsobující denaturaci syrovátkových bílkovin.....	18
Tabulka 8: Obsah bílkovin v jednotlivých formách syrovátkové bílkoviny.....	19
Tabulka 9: Typy membránových separací.....	27
Tabulka 10: Spotřeba alkoholu v České republice v letech 1989 – 2012 na osobu za rok.....	31
Tabulka 11: Obsah ethanolu a jeho energetická hodnota u vybraných nápojů.....	33
Tabulka 12: Zdraví prospěšné a zdraví škodlivé látky obsažené v pivu.....	34
Tabulka 13: Výsledky sensorického hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující jogurtovou kulturu.....	65
Tabulka 14: Základní tabulka výstupů analýzy rozptylu jednoduchého třídění.....	66
Tabulka 15: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu.....	67
Tabulka 16: Výsledky sensorického hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující kefirovou kulturu.....	71
Tabulka 17: Výsledky sensorického hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> .....	77
Tabulka 18: Výsledky sensorického hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující vinné kvasinky Vinflora.....	82
Tabulka 19: Výsledky sensorického hodnocení (%) fermentovaných syrovátkových nápojů obsahující <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> .....	88
Tabulka 20: Koncentrace alkoholu - ethanolu ve vzorcích obsahujících <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> .....	91
Tabulka 21: Koncentrace alkoholu - ethanolu ve vzorcích obsahujících Vinné kvasinky Vinflora.....	92
Tabulka 22: Koncentrace alkoholu - ethanolu ve vzorcích obsahujících <i>Saccharomyces cerevisiae</i> subsp. <i>uvarum carlsbergensis</i> .....	93

## 12 Seznam použitých zkratk a symbolů

Aroma	organoleptická vlastnost vnímaná prostřednictvím čichového orgánu
Flavour	kombinace čichových, chuťových a trigeminálních vlastností vnímaných během zkoušení
$\beta$ -LG	$\beta$ -laktoglobulin
$\alpha$ -LA	$\alpha$ -laktalbumin
BSA	bovinní sérový albumin
IgG	imunoglobuliny
IEB	izoelektrický bod
kDa	kilodalton
WPC	z anglického “whey protein concentrate”
WPI	z anglického “whey protein isolate”
WPH	z anglického “whey protein hydrolysate”
WP	z anglického “whey permeate”
TWP	z anglického “texturized whey protein”
BCAA	z anglického “branched-chain amino acids”
FAO	Organizace spojených národů pro výživu a zemědělství
WHO	Světová zdravotnická organizace
ACA	Americká kardiologická společnost
GC	Plynová chromatografie
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
SFC	Superkritická fluidní chromatografie
NIRS	Blízká infračervená spektroskopie

## 13 Seznam samostatných příloh

### Příloha I: Protokol senzoričského hodnocení

#### HODNOCENÍ SENZORICKÉHO PROFILU SYROVÁTKOVÉHO NÁPOJE

Příjmení: .....Jméno: .....Č. vzorku: .....  
Zdravotní stav: .....Datum a hodina: .....

**Úkol:** Ochutnejte předložený vzorek nápoje a soustřeďte se na hodnocení vzhledu, vůně, chuti a konzistence. K hodnocení použijte grafické stupnice.

##### VZHLED

CELKOVÝ VZHLED: \_\_\_\_\_  
velmi špatný \_\_\_\_\_ vynikající

INTENZITA BARVY: \_\_\_\_\_  
neznatelná \_\_\_\_\_ velmi silná

PŘÍJEMNOST BARVY: \_\_\_\_\_  
odporná \_\_\_\_\_ velmi příjemná

##### VŮŇ

PŘÍJEMNOST VŮŇ: \_\_\_\_\_  
odporná \_\_\_\_\_ velmi příjemná

INTENZITA MLÉČNÉ  
VŮŇ: \_\_\_\_\_  
neznatelná \_\_\_\_\_ velmi silná

INTENZITA SYROVÁTKOVÉ  
VŮŇ: \_\_\_\_\_  
neznatelná \_\_\_\_\_ velmi silná

INTENZITA OVOCNÉ  
VŮŇ: \_\_\_\_\_  
neznatelná \_\_\_\_\_ velmi silná

##### KONZISTENCE

PŘÍJEMNOST  
KONZISTENCE: \_\_\_\_\_  
odporná \_\_\_\_\_ velmi příjemná

VISKOZITA: \_\_\_\_\_  
velmi řídká \_\_\_\_\_ velmi hustá

## CHUŤ

CELKOVÁ PŘÍJEMNOST	<hr/>	
CHUTI:	odporná	velmi příjemná
INTENZITA OVOCNÉ	<hr/>	
CHUTI:	neznatelná	velmi silná
INTENZITA MLÉČNÉ	<hr/>	
CHUTI:	neznatelná	velmi silná
INTENZITA SYROVÁTKOVÉ	<hr/>	
CHUTI:	neznatelná	velmi silná
INTENZITA SLADKÉ	<hr/>	
CHUTI:	neznatelná	velmi silná
INTENZITA KYSELÉ	<hr/>	
CHUTI:	neznatelná	velmi silná
PŘÍJEMNOST PERLIVOSTI	<hr/>	
	neznatelná	velmi silná
CELKOVÁ INTENZITA PACHUTÍ:	<hr/>	
	neznatelná	velmi silná

### CELKOVÉ HODNOCENÍ NÁPOJE:

---

**odporný** **velmi příjemný**

### ZAPIŠTE NALEZENÉ VADY VZHLEDU, VŮNĚ, CHUTI ČI KONZISTENCE:

.....  
.....



Příloha II: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celkový vzhled – jogurtová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná Hodnocení (celkový vzhled jogurt) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 142,90, sv = 66,000				
Č. buňky	vzorek	Hodnocení Průměr	1	2
2	2	36,00000	****	
3	3	36,66667	****	
1	1	37,91667	****	
5	5	61,41667		****
4	4	64,33333		****
6	6	68,75000		****

Příloha III: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (příjemnost barvy – jogurtová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (Příjemnost bar) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 174,42, sv = 66,000					
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3
3	3	43,50000		****	
2	2	51,66667	****	****	
1	1	52,75000	****	****	
5	5	60,83333	****		****
4	4	66,08333	****		****
6	6	69,50000			****

Příloha IV: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (příjemnost vůně - jogurtová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (příjemnost vů) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 278,71, sv = 66,000					
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3
1	1	34,41667	****		
2	2	35,41667	****		
3	3	49,16667	****	****	
6	6	59,83333		****	****
4	4	68,00000		****	****
5	5	70,83333			****

Příloha V: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celková příjemnost chuti – jogurtová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (celková příjemnost ch Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 158,33, sv = 66,000					
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3
1	1	21,75000		****	
2	2	33,66667		****	
4	4	54,62500	****		
3	3	56,50000	****		
5	5	64,16667	****		
6	6	79,91667			****

Příloha VI: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celková intenzita pachutí – jogurtová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (celková intenz. pach) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 291,05, sv = 66,000				
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2
6	6	8,75000		****
5	5	18,75000	****	****
4	4	19,08333	****	****
3	3	27,16667	****	****
2	2	31,16667	****	
1	1	37,66667	****	

Příloha VII: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celkový vzhled – keřirová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (celkový vzhled) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 467,99, sv = 66,000				
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2
3	3	37,66667	****	
5	5	40,91667	****	****
2	2	47,25000	****	****
4	4	51,16667	****	****
6	6	53,08333	****	****
1	1	65,50000		****

Příloha VIII: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (příjemnost vůně – keřirová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (Příjemnost vůně) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 355,83, sv = 66,000					
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3
1	1	28,25000		****	
2	2	29,00000		****	****
3	3	51,41667	****		****
5	5	53,25000	****		
4	4	65,16667	****		
6	6	65,83333	****		

Příloha IX: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celková příjemnost chuti – keřirová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (celková příjemnost chuti) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 132,39, sv = 66,000					
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3
1	1	5,66667		****	
4	4	16,58333		****	
2	2	41,75000	****		
6	6	51,58333	****		
3	3	51,58333	****		
5	5	69,00000			****

Příloha X: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celková intenzita pachutí – keřirová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (Celková intenzita pach Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 256,86, sv = 66,000				
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2
6	6	11,75000	****	
5	5	16,00000	****	
3	3	24,33333	****	
2	2	27,00000	****	
1	1	50,91667		****
4	4	64,58333		****

Příloha XI: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celkové hodnocení nápoje – keřirová kultura)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (Celkové hodnocení ná Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 123,89, sv = 66,000					
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3
1	1	7,58333			****
2	2	44,83333		****	
3	3	55,25000		****	
5	5	70,83333	****		
4	4	70,83333	****		
6	6	83,25000	****		

Příloha XII: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celkový vzhled - *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (Kluyveromyces marxian Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 334,23, sv = 66,000				
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2
2	2	54,83333	****	
1	1	61,75000	****	****
3	3	67,33333	****	****
4	4	69,50000	****	****
6	6	71,08333	****	****
5	5	78,58333		****

Příloha XIII: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celková příjemnost chuti - *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (Kluyveromyces marxian Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 293,29, sv = 66,000					
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3
4	4	19,08333	****		
6	6	27,91667	****	****	
2	2	31,25000	****	****	****
1	1	37,16667	****	****	****
5	5	40,41667		****	****
3	3	49,75000			****

Příloha XIV: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (celkový vzhled – vinné kvasinky Vinflora)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (Sešit1vír Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 246,84, sv = 66,000				
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2
4	4	45,83333		****
5	5	65,41667	****	
6	6	66,00000	****	
3	3	70,00000	****	
2	2	76,33333	****	
1	1	77,00000	****	

Příloha XV: schematické znázornění homogenních skupin podrobnějšího vyhodnocení analýzy rozptylu (příjemnost vůně – vinné kvasinky Vinflora)

Tukeyův HSD test; proměnná hodnocení (Sešit1vír Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 587,02, sv = 66,000					
Č. buňky	vzorek	hodnocení Průměr	1	2	3
4	4	31,58333			****
6	6	41,75000	****		****
1	1	44,25000	****	****	****
5	5	63,75000	****	****	
2	2	69,50000	****	****	
3	3	71,66667		****	