

# Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



## Vliv přídavku vlákniny na kvalitu fermentovaných mléčných výrobků s obsahem probiotik

Diplomová práce

Autor práce: Kateřina Vihanová

Vedoucí práce: Ing. Miroslava Potůčková

2015

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Vliv přídatku vlákniny na kvalitu fermentovaných mléčných výrobků s obsahem probiotik“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne.....

### **Poděkování**

Ráda bych poděkovala Ing. Miroslavě Potůčkové za odborné vedení diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala prof. Ing. Evě Vlkové, PhD. za pomoc s mikrobiologickou částí laboratorní analýzy

## SOUHRN

Diplomová práce se zabývá vlivem přídavku vlákniny na kvalitu probiotických fermentovaných mléčných výrobků. Stručně, co je to vláknina (definice), jak ji dělíme (rozpustná, nerozpustná), jaké zdroje vlákniny jsou nebo mohou být používány v potravinářství (výčet), jaké pozitivní účinky má a proč by mohlo být dobré ji dávat do probiotických výrobků (jak působí na probiotika).

V experimentální části práce byla provedena výroba 10 modelových probiotických fermentovaných výrobků (acidofilního a ABT mléka) s obsahem 1,5 % hm. tuku a přídavkem 4 různých zdrojů vlákniny (jablečná vláknina, psyllium, žitné otruby a inulin) v množství 1 % hm. Získané produkty byly charakterizovány obsahem sušiny, fermentabilitou, počtem probiotických bakterií, množstvím odloučené syrovátky a sensorickým profilem. U vzorků acidofilního mléka s obsahem psyllia a ABT mléka s jablečnou vlákninou, psylliem a inulinem byl zaznamenán statisticky významný nárůst sušiny ( $p > 0,05$ ). Byl prokázán pozitivní vliv ( $p > 0,05$ ) přídavku psyllia, žitných otrub a inulinu na růst a kysací schopnost acidofilní kultury a negativní vliv všech charakterizovaných zdrojů vláknin na růst a kysací schopnost probiotické kultury. Nebyl pozorován významný rozdíl ve vaznosti vody mezi jednotlivými vzorky během skladování po dobu 28 dnů při 5 °C. Při hodnocení sensorických vlastností analytů byl nejhorší sensorický profil zaznamenán pro výrobky fortifikované psylliem a nejlepší pro standardy (bez přídavku vlákniny) a produkty obsahující inulin.

**Klíčová slova:** vláknina, prebiotika, kysané mléčné výrobky, synbiotika, probiotika

## **SUMMARY**

This thesis is dedicated to an influence of a fiber addition on quality of fermented dairy products. The theoretical part is divided into three subsections. In brief, what fiber is, how do we divide it (soluble, insoluble), sources that could be used in a food industry, which positive effects does fiber have on a consumer and why is it beneficial to fortify dairy products containing probiotic bacteria.

Manufacture of 10 model probiotic fermented products (and acidophilus milk ABT) containing 1.5 wt% fat and adding four different sources of pulp (apple fiber, psyllium, rye bran and inulin) in an amount of 1 wt% has been done in the experimental part of this thesis. Obtained products were characterized by a content of dry matter, fermentability, the number of probiotic bacteria, the amount of separated whey and sensory profile. For samples acidified milk containing psyllium and ABT milk, apple fiber, psyllium and inulin had a statistically significant increase in dry matter ( $p > 0.05$ ). Positive effect was demonstrated ( $p > 0.05$ ) the addition of psyllium, rye bran and inulin on the growth and the fermentability of acidified culture and there has been negative effect on growth and fermentability of probiotic cultures by the addition of all fiber types. There was no significant difference in binding of water in between samples during storage for 28 days at 5 °C. The worst sensory profile evaluation has been observed for products fortified with psyllium and best for standards (without the addition of fiber) and products containing inulin.

**Keywords:** fiber, prebiotics, fermented dairy products, symbiotic, probiotics

## **OBSAH**

1. ÚVOD .....	8
2. VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE.....	9
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE .....	10
3.1. Vlákna .....	10
3.1.1. Rozpustná vlákna .....	11
3.1.2. Nerozpustná vlákna.....	11
3.1.3. Rezistentní škrob.....	11
3.1.4. Vliv vlákniny na zdraví konzumenta .....	11
3.1.4.1. Kardiovaskulární choroby.....	12
3.1.4.2. Diabetes II. typu .....	13
3.1.4.3. Gastrointestinální choroby .....	13
3.1.4.4. Rakovina tlustého střeva .....	15
3.1.4.5. Obezita .....	15
3.1.5. Doporučený příjem a zdroje vlákniny.....	16
3.1.5.1. Přílišný příjem vlákniny.....	17
3.1.6. Zdroje vlákniny .....	17
3.1.6.1. Funkční zdroje vlákniny.....	18
3.1.6.2. Vlákna z ovocných zdrojů .....	18
3.1.6.3. Inulin .....	19
3.1.6.4. Vlákna z obilovin a olejnin .....	19
3.2. Probiotické fermentované mléčné výrobky .....	22
3.2.1. Probiotické mikroorganismy.....	22
3.2.2. Technologie výroby fermentovaných mléčných výrobků .....	24
3.2.2.1. Příprava výrobní směsi.....	25
3.2.2.2. Inokulace mlékařskou kulturou.....	26
3.2.2.3. Fermentace .....	26

3.2.2.4. Procesy probíhající při fermentaci .....	27
3.2.3. Zdravotní přínosy fermentovaných mléčných výrobků .....	27
3.2.4. Fermentované mléčné výrobky obohacené o vlákninu .....	28
3.2.4.1. Využití vlákniny ovocného původu při přípravě fermentovaných mléčných výrobků .....	29
3.2.4.3. Využití vlákniny při výrobě regionálních produktů .....	30
3.2.4.4. Terapeutické využití FMV s obsahem vlákniny .....	31
<b>4. MATERIÁL A METODY .....</b>	<b>32</b>
4.1. Materiál a metodika .....	32
4.2. Mlékařské kultury .....	32
4.3. Živné půdy .....	32
4.4. Chemikálie .....	32
4.5. Přístrojové vybavení .....	32
4.6. Příprava probiotických fermentovaných mléčných výrobků .....	33
4.7. Analytické metody .....	33
4.7.1. Infračervená spektroskopie (ČSN 57 0536) .....	33
4.7.2. Obsah sušiny (ČSN EN ISO 712; ČSN ISO 6731) .....	34
4.7.3. Fermentabilita .....	35
4.7.4. Aktivní kyselost .....	35
4.7.5. Titrační kyselost dle Soxhlet-Henkela .....	35
4.7.6. Odlučování syrovátky .....	35
4.7.7. Stanovení počtů mikroorganismů (ČSN ISO 6610; Vlková et Rada, 2013) .....	36
4. 8. Senzorická analýza (ČSN ISO 6658; ČSN ISO 8587) .....	37
4.9. Statistická analýza .....	37
<b>5. VÝSLEDKY .....</b>	<b>38</b>
<b>5.1. Charakterizace základního složení surovin a výrobků .....</b>	<b>38</b>
5.2. Vliv přídavku vlákniny na kysací schopnost probiotických mléčných kultur ...	40

5.3. Vliv přídavku vlákniny na růst probiotických mlékařských kultur .....	49
5.4. Vliv přídavku vlákniny na intenzitu odlučování syrovátky u probiotických fermentovaných mléčných výrobků.....	51
4.5. Vliv přídavku vlákniny na sensorické vlastnosti probiotických fermentovaných mléčných výrobků.....	52
<b>6. DISKUZE.....</b>	<b>59</b>
<b>7. ZÁVĚR.....</b>	<b>61</b>
<b>8. POUŽITÁ LITERATURA.....</b>	<b>62</b>
<b>9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ .....</b>	<b>65</b>
<b>10. SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY .....</b>	<b>I</b>
Příloha 1: Protokol sensorické analýzy.....	II
Hodnocení sensorického profilu fermentovaného mléčného výrobku .....	II

## 1. ÚVOD

Téma „Vliv přídavku na kvalitu fermentovaných mléčných výrobků s obsahem probiotik“ jsem si vybrala proto, že příjem vlákniny ve vyspělých zemích je nedostatečný a s tím souvisí výskyt celé řady civilizačních onemocnění. Ačkoli ke vzniku těchto onemocnění vede celá řada faktorů nezdravého životního stylu, strava je tím aspektem, ve kterém je nejsnadnější provést změny k lepšímu. Česká republika patří mezi země s nejvyšším výskytem rakoviny tlustého střeva, která s nedostatečným příjmem vlákniny i nezdravou stravou úzce souvisí. Protože přirozené zdroje vlákniny (celozrnné cereálie, ovoce, zelenina a luštěniny) nepatří mezi nejvyhledávanější potraviny, myslím si, že přídavek vlákniny do oblíbenějších produktů, například chutných fermentovaných mléčných výrobků, by mohl mít na její příjem v potravě příznivý vliv v případě, že vláknina příliš neovlivní nebo dokonce zlepší jejich chuť a texturní vlastnosti.

Mléčné výrobky s obsahem probiotických bakterií poskytují příznivé účinky na lidské zdraví. Pozitivní vliv fermentovaných mléčných produktů na zdraví trávicího traktu byl znám již od starověku. Na počátku 20. století bylo zjištěno, že za těmito účinky stojí specifická mikroflóra obsažená v těchto výrobcích, a jež byla později definována jako probiotika. Tímto názvem se rozumí „přátelské“ mikroorganismy, které pokud jsou pravidelně konzumovány, mají příznivý vliv na zdraví hostitele. Nevýhodou je však jejich nízká životnost a musí se v potravě přijímat pravidelně. K substrátům specificky stimulující růst těchto bakterií patří různé nestravitelné části potravy, které dosáhnou tlustého střeva v nezměněné podobě a stimulují v něm růst právě probiotických mikroorganismů. Tyto nestravitelné části potravy jsou označovány jako prebiotika a souhlasný účinek probiotik a prebiotik se nazývá synbiotický. Tohoto účinku by rovněž mohlo být dosaženo přídavkem vlákniny, která má díky svému složení prebiotický potenciál, do fermentovaných mléčných výrobků s obsahem probiotik.



## **2. VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE**

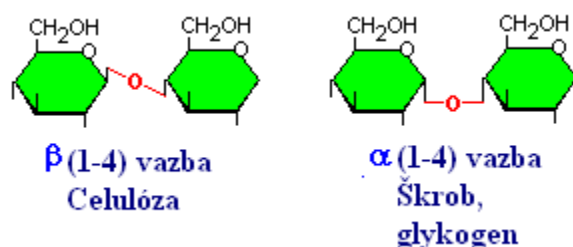
Vědeckou hypotézou diplomové práce je, že: „Přídavek vlákniny má vliv na technologickou a sensorickou kvalitu fermentovaných mléčných výrobků s obsahem probiotik“

Cílem diplomové práce je v teoretické části zpracování literární rešerše shrnující současné poznatky o vlastnostech a možnostech využití běžných i nových potravinářských typů vlákniny při výrobě fermentovaných mléčných produktů, resp. fermentovaných mléčných produktů obsahujících probiotické kultury. V praktické části pak bude provedena výroba modelových probiotických kysaných mléčných výrobků s obsahem různých typů vlákniny, s cílem porovnání jejich vybraných fyzikálně-chemických, technologických a sensorických vlastností.

### 3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

#### 3.1. Vlákna

Vlákna je definována jako součásti potravy rostlinného původu, které jsou rezistentní vůči trávení pomocí trávicích enzymů člověka. Mezi tyto části stravy se dříve zahrnovaly pouze polysacharidy a lignin. Později byla definice rozšířena tak, aby zahrnovala i oligosacharidy, mezi které jsou řazeny například inulin, a další rezistentní škroby. Většina vlákniny přijímané potravou jsou polysacharidy. Sacharidy přijímané v potravě jsou členěny podle jejich stravitelnosti v lidském trávicím traktu na dvě základní skupiny. První skupina snadno podléhá enzymatické hydrolyze a je vstřebávána v tenkém střevě. Do této skupiny patří například jednoduché cukry, škrob a fruktany (oligosacharidy složené z fruktózových jednotek). Druhá skupina sacharidů je vůči lidským trávicím enzymům rezistentní a pro její štěpení je nutná fermentace pomocí mikroflóry tlustého střeva. Sem jsou řazeny již výše zmíněné hemicelulózy, lignin,  $\beta$ -glukany, celulóza a pektin. Škrob i celulóza jsou svým chemickým složením polysacharidy, ale liší se vzájemnými vazbami mezi monosacharidovými jednotkami (tvořenými glukózou). Zatímco v molekule škrobu jsou mezi sebou glukózové jednotky pospojovány  $\alpha(1-4)$  a  $\alpha(1-6)$  glykosidickou vazbou, v molekule celulózy jsou glukózové jednotky spojeny  $\beta(1-4)$  glykosidickou vazbou, která nemůže být rozštěpena trávicími enzymy lidského trávicího traktu. Vláknu lze dále dělit podle jejich fyzikálně-chemických vlastností na rozpustnou a nerozpustnou, toto členění pomáhá objasnit jejich roli v organismu a formu výskytu. Ve většině potravin s obsahem vlákniny je tato složka tvořena zhruba z jedné třetiny rozpustné a dvou třetin nerozpustné vlákniny (Otles et Ozgoz, 2014; Rolfes et Whitney, 2011).



**Obrázek 1:** Rozdíl mezi vzájemnou vazbou glukózových jednotek (Science and Health Education Shows, 2015)

### **3.1.1. Rozpustná vláknina**

Rozpustná vláknina je schopna se rozpouštět ve vodě za současného vytvoření viskózního gelu. Tyto části potravy nepodléhají enzymatickému trávení v tenkém střevě, ale jsou snadno fermentovány mikroflórou tlustého střeva. Mezi rozpustnou vlákninu jsou řazeny pektiny, gummy, fruktany inulinového typu a některé hemicelulózy (Otles et Ozgoz, 2014). Ve vodě rozpustná vláknina se běžně vyskytuje v ovsu, ječmeni, luštěninách a citrusovém ovoci a je spojována s ochranou proti kardiovaskulárním onemocněním a cukrovce II. typu díky snižování hladin krevního cholesterolu a glukózy (Rolfes et Whitney, 2011).

### **3.1.2. Nerozpustná vláknina**

Nerozpustná vláknina netvoří ve vodním prostředí žádný gel a její fermentace v tlustém střevě je omezena. Do této kategorie je zahrnována celulóza, lignin a některé hemicelulózy (Otles et Ozgoz, 2014). Nejčastěji se nerozpustná vláknina vyskytuje v otrubách obilovin a zelenině. Její účinky spočívají ve zvyšování motility střev, úlevě od zácpy a prevenci divertikulární nemoci (Rolfes et Whitney, 2011).

### **3.1.3. Rezistentní škrob**

I určitý typ škrobu je označován jako vláknina. Tento substrát také nepodléhá trávení a absorpci v tenkém střevě z různých důvodů, například kvůli fyzikálně-chemickým vlastnostem potravin, v nichž se vyskytuje, nebo individuálním schopnostem lidského těla v trávení škrobů z potravy. Mezi zdroje rezistentního škrobu patří celá i částečně mletá zrna obilovin, luštěniny a právě zrající banány. Vařená rýže, těstoviny a brambory, které byly po své kulinářské úpravě uchovávány v chladírenských teplotách, také obsahují rezistentní škroby. Stejně jako nerozpustná vláknina, podporuje tento substrát zdraví tlustého střeva (Rolfes et Whitney, 2011).

### **3.1.4. Vliv vlákniny na zdraví konzumenta**

Ačkoliv byl termín vláknina zaveden až v roce 1953, už v dobách před naším letopočtem poukázal lékař Hippokrates na specifické projímavé účinky hrubé nezpracované pšenice na rozdíl od té rafinované. V roce 1920 publikoval J. H. Kellogg rozsáhlou studii, ve které připisoval obilným otrubám účinky na zvýšení objemu stolice, čímž působí jako laxativum a napomáhá prevenci některých chorob typických pro západní populaci. Ve třicátých letech byla vláknina bouřlivě zkoumána a poté zapomenuta až do let sedmdesátých (Slavin, 2013).

„Vlákninová hypotéza“ byla poprvé zformulována během let 1972-76. Tvrdilo se v ní, že vysoké dávky vlákniny v dietě mají ochrannou funkci při chronických stavech, jako je rakovina tlustého střeva, zácpa, srdeční choroby a cukrovka. Během posledních desetiletí byla pravdivost hypotézy potvrzena mnoha epidemiologickými studiemi a došlo k vytvoření silné evidence, která hypotézu o příznivých účincích vláknin na zdraví člověka podpořila (Satija et Hu, 2012).

Převážná část metabolismu vlákniny se odehrává v tlustém střevě. Jakékoli nestrávené sacharidy, které se dostanou až do tlustého střeva, jsou částečně nebo úplně fermentovány bakteriemi za vzniku mastných kyselin s krátkým řetězcem (acetát, propionát a butyrát) a mnoha plynů jako je oxid uhličitý, vodík, metan a další. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem následně zvýší osmotický tlak, jsou absorbovány a dále metabolizovány kolonocyty, hepatocyty nebo dalšími přilehlými tkáněmi. Zbytky vlákniny také zahušťují stolicí a bylo zjištěno, že fermentace nepřímým způsobem zvyšuje počet střevních bakterií a jejich diverzitu. To znamená, že typ požívané vlákniny vede ke specifické adaptaci a změně střevní mikroflóry (Eswaran et al., 2013).

#### **3.1.4.1. Kardiovaskulární choroby**

Kardiovaskulární onemocnění, zahrnující ischemickou chorobu srdeční, infarkt myokardu a hypertenzi, jsou jedním z hlavních příčin úmrtí a zhoršení kvality života v západních zemích. Ačkoli v západních zemích jsou tato onemocnění tak častá, dají se do velké míry ovlivnit životosprávou. Odhadem 82% případů těchto onemocnění je připisováno nízké fyzické aktivitě, kouření a cca 60% je způsobeno nesprávnou výživou (Kris-Etherton et al, 2002).

Dostatečný každodenní příjem vlákniny v potravě je spojován s výrazným snížením prevalence výše zmíněných onemocnění, protože snižuje krevní tlak, zlepšuje složení krevních lipidů a snižuje v cévách zánětlivé reakce, které vznikají při vývoji aterosklerotických plátů. Především u rozpustné vlákniny byl pozorován pozitivní vliv na snižování hladin LDL cholesterolu v krvi kvůli zvyšování sekrece žluči. Dále bylo zjištěno, že mastné kyseliny s krátkým řetězcem, jež vznikají v tlustém střevě bakteriální fermentací vlákniny, potlačují syntézu cholesterolu. Neposledním přínosem vlákniny je i její schopnost regulovat příjem energie z potravy, díky němuž může docházet ke snižování nadváhy, která je jedním z rizikových faktorů pro rozvoj kardiovaskulárních onemocnění. Na základě dostatečné epidemiologické evidence přijal americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv

(Food and Drug Administration) zdravotní tvrzení ohledně příznivých efektů vlákniny na vývoj kardiovaskulárních onemocnění (Otles et Ozgoz, 2014; Satija et Hu, 2012).

Pravidelná konzumace vlákniny, především té z cereálních zdrojů, je úzce spjata se snížením rizika vzniku různých chorob s kardiovaskulárními projevy. Především se jedná o snižování rizikových faktorů jejich vzniku, kterých je mnoho: regulace tělesné váhy, ovlivnění metabolismu glukózy, zlepšení lipidového profilu a redukce chronických zánětlivých reakcí probíhajících v cévách (Satija et Hu, 2012).

#### **3.1.4.2. Diabetes II. typu**

Výskyt cukrovky druhého typu v posledních letech exponenciálně stoupá. Ačkoli je připisována obezitě, nedostatečné pohybové aktivitě a kouření, nutriční faktory také hrají při jejím vývoji velmi důležitou roli. Protože onemocnění je způsobeno sníženou inzulínovou citlivostí a následně vyvolanou hyperglykemií, pacienti jsou nuceni upravit si svůj příjem sacharidů. Cukry s vysokým glykemickým indexem vyvolávají okamžitou inzulínovou odpověď a dochází k prudkému nárůstu hladiny glukózy v krvi. Mezi tyto složky patří především jednoduché a lehce stravitelné sacharidy. Bylo zjištěno, že nestrukturální polysacharidy a vláknina chelatují některé živiny a prodlužují tranzitní čas jejich průchodu trávicím traktem, což zpomaluje absorpci glukózy a jejího prudkého nárůstu a poklesu v krvi při požití sacharidů s vysokým glykemickým indexem.

Zajímavé jsou i výsledky epidemiologických studií, které se shodují v tom, že vláknina z ovoce neměla na vývoj cukrovky II. typu žádný vliv, zatímco vláknina pocházející z celozrnných produktů a cereálií prokázala snížení výskytu této civilizační choroby (Otles et Ozgoz, 2014).

#### **3.1.4.3. Gastrointestinální choroby**

Vláknina z potravy moduluje její průchod celým trávicím traktem. Zatímco rozpustná vláknina zpomaluje vyprazdňování žaludku a průchod tráveniny tenkým střevem, nerozpustná vláknina spíše průchod tráveniny urychluje. V tlustém střevě fermentovatelná vláknina napomáhá udržení zdravé mikroflóry, stimuluje například růst rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Substrát, který nepodléhá fermentaci, zvyšuje hmotnost a objem stolice a usnadňuje vyprazdňování (Otles et Ozgoz, 2014). Objemná, měkká a pravidelná stolice pak redukuje tlak v koncových částech tlustého střeva, předchází zácpě a hemoroidům. V neposlední řadě vláknina stimuluje svalovinu celé trávicí trubice a v oblasti tlustého střeva zabraňuje jejímu vyboulení do váčků, známými jako divertikulární nemoc. Tato nemoc je pátá

nejčastější gastrointestinální obtíž postihující populaci západních zemí a její výskyt je spjat s nedostatečným přísunem vlákniny v potravě (Rolfes et Whitney, 2011).

Dalším možný příznivý efekt prokazuje vláknina při syndromu dráždivého tračníku (IBS). Tento syndrom je jedna z nejrozšířenějších funkčních poruch gastrointestinálního traktu a zahrnuje následující příznaky jako je břišní diskomfort, nadýmání, průjem a zácpa. V současné době není zcela jasné, jak tato civilizační choroba vznikla. Zatímco někteří lékaři se domnívají, že moderní západní strava s malým obsahem vlákniny je příčinou vyšší prevalence syndromu IBS, jiní si myslí, že složka samotná tyto příznaky zhoršuje nebo i přímo způsobuje. Takto rozdílné názory jsou pravděpodobně výsledkem různorodé etiologie syndromu dráždivého tračníku, nejasností ohledně toho, co považujeme či nepovažujeme za vlákninu, a také nedostatkem kvalitních a relevantních studií. Bylo zjištěno, že pšeničné otruby symptomy IBS spíše zhoršují a způsobují i doprovodné nežádoucí příznaky (nadýmání a bolest břicha), vysoce rozpustná vláknina jako je například psyllium, isphagula nebo částečně hydrolyzovaná guma guar mají mírnou tendenci příznaky zmírňovat. Zajímavostí také je, že zhoršení příznaků IBS při konzumaci vlákniny z konvenčních zdrojů (cereálie, otruby, ovoce a zelenina) může docházet také proto, že tyto zdroje obsahují i tzv. FODMAPs. Jedná se o zkratku oligosacharidů, disacharidů, monosacharidů a vícemocných alkoholů, které jsou v tenkém střevě nedostatečně absorbovány, v tlustém střevě jsou bouřlivě fermentovány a působí výše zmíněné nežádoucí účinky (Eswaran et al., 2013).

Velmi zajímavý vliv na zdraví gastrointestinálního traktu byl pozorován u inulinu. Tento polysacharid ze skupiny rozpustné vlákniny funguje v tlustém střevě jako prebiotikum tím, že stimuluje růst bakterií rodu *Bifidobacterium* při současném omezení růstu patogenních kmenů jako *Salmonella*, *Escherichia coli* nebo *Listeria*. Těchto vlivů by bylo možno využít při poruchách jako je ulcerózní kolitida nebo infekční průjemové nákazy způsobené *Clostridium difficile* (Ottles et Ozgoz, 2014).

Schopnost příznivě ovlivňovat složení mikroflóry tlustého střeva byla pozorována i u ostatních druhů vláknin a jejich potravních zdrojů. Například u arabské gummy byl prokázán vyšší nárůst počtu bifidobakterií než u stejné dávky inulinu a také snížení gastrointestinálních nepříznivých účinků zpracování potravy jako je plynatost a nadýmání. Mezi další typy vláknin, které působí selektivně na růst bakterií rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* patří také polydextróza, pšeničné dextriny a psyllium (Slavin, 2013).

Působení vlákniny bylo prokázáno i v horních částech trávicího traktu. Tento účinek je připisován mastným kyselinám s krátkým řetězcem, které při studiích na zdravých dobrovolnících prokázaly působení relaxací proximálního žaludku a dolního jícnového

svěrače. Podobné efekty byly pozorovány i na pacientech s refluxní chorobou, kteří byli živeni stravou s vyšším obsahem nestravitelných sacharidů. Strava s obsahem 10 g nestravitelných polysacharidů vedla ke zvýšení počtů relaxací dolního jícnového svěrače a tím vedla ke zhoršení příznaků jícnové refluxní choroby (Eswaran et al., 2013).

#### **3.1.4.4. Rakovina tlustého střeva**

Rakovina je v současné době jednou z nejobávanějších chorob, protože její incidence stále narůstá a postihuje muže i ženy v téměř vyrovnaném poměru. Jedním z nejčastějších druhů rakoviny, která může vést ke zhoršení kvalit života a úmrtí v západních zemích, je rakovina tlustého střeva. Historická pozorování i epidemiologické studie dlouhodobě podporují hypotézu, že zvýšený příjem ovoce, zeleniny a vlákniny má ochranný efekt před výskytem tohoto typu onemocnění (Ottles et Ozgoz, 2014; Jacobs, 1989).

Požívání dostatečného množství vlákniny může být prevencí vzniku rakoviny tlustého střeva díky několika mechanismům. Prvním je ředění, vázání a rychlé vyloučení karcinogenních látek z trávicího traktu. Rozpustná vláknina dále stimuluje bakteriální fermentaci a proces, při kterém vznikají mastné kyseliny s krátkým řetězcem, a snižuje se tak pH v tlustém střevě (Rolfes et Whitney, 2011). Jedna z těchto mastných kyselin, kyselina máselná, prokázala schopnost vyvolávat apoptózu buněk tlustého střeva, které vznikají díky nekontrolovatelnému rakovinnému bujení. Apoptóza je proces programované buněčné smrti a je jedním z obranných mechanismů proti nekontrolované karcinogenezi, která vede ke vzniku tumoru. Evidence naznačuje, že zvýšení počtu bakterií rodu *Bifidobacterium* v tlustém střevě a snižování jeho vnitřního pH přímo vede k potlačování karcinogeneze v tlustém střevě. Jako selektivní substrát pro tyto bakterie slouží inulin, rezistentní škrob a některé oligosacharidy. Kompletní mechanismus, který stojí za potlačováním vzniku rakoviny v tlustém střevě, ještě není zcela objasněn, ale navrhované jsou dva základní procesy, a to redukce vzniku karcinogenních produktů patogenních bakterií tlustého střeva a aktivace enzymů štěpících karcinogenní látky díky snížení pH v prostředí (Rolfes et Whitney, 2011; Ottles et Ozgoz, 2014).

#### **3.1.4.5. Obezita**

Vláknina prochází trávicím traktem v nezměněné podobě a netvoří se z ní pomocí enzymů monosacharidy. Díky tomu neposkytuje organismu téměř žádnou energii, čehož lze využít v prevenci nadváhy a obezity (Rolfes et Whitney, 2011).

Výskyt obezity je v západní populaci čím dál tím častější, a ačkoli k jejímu vývoji vede mnoho faktorů, tím nejdůležitějším stále zůstává nerovnováha mezi energetickým

příjmem a výdejem. Z tohoto důvodu je snížení energie absorbovatelné z potravy rozhodující (Ottle et Ozgoz, 2014). Potraviny s vysokým obsahem vlákniny mají nižší obsah energie a mají schopnost snížit celkový denní příjem energie ve stravě. Vyžadují totiž důkladnější žvýkání v dutině ústní, absorpce vody v případě rozpustné vlákniny a následná formace viskózního gelu způsobuje žaludeční distenzi, která je považována za jednu z příčin pocitu sytosti. Dále vláknina ovlivňuje energetický příjem opožděním žaludečního vyprazdňování a ovlivněním hormonů vylučovaných v tenkém střevě (Satija et Hu, 2012). Jedním z těchto hormonů je hormon ghrelin, jež stimuluje chuť k jídlu. V několika studiích byla zjištěna menší koncentrace ghreluinu v krvi po pozření jídla s vyšším obsahem vlákniny. Protože však převládá názor, že proteiny a sacharidy jsou v útlumu hladin ghreluinu účinnější než lipidy a že hlavní příčina jeho poklesu je přítomnost tráveniny v tenkém střevě, nebyla tato hypotéza zcela potvrzena (Klosterbuer, 2012).

Četné další studie prokázaly, že lidé konzumující vyšší množství vlákniny mají nižší tělesnou hmotnost než ti, kteří ji mají ve výživě zastoupenou v menším množství. V jedné z těchto studií bylo pozorováno, že denní navýšení přísunu této složky ve výživě o 1 gram v horizontu 20 měsíců má za následek úbytek tělesné hmotnosti až o 0,25 kg. Příjem vlákniny však musí být obvykle propojen s ostatními faktory zdravého životního stylu, jako je konzumace ovoce a zeleniny a fyzická aktivita. Howarth a kol. (2001) shrnul výsledky více než 50 intervenčních studií, v nichž byly hodnoceny vzájemné vztahy mezi příjmem energie, vlákniny a tělesnou hmotností. V závěrech bylo postulováno, že navýšení konzumace vlákniny o 14g denně má za následek úbytek příjmu energie o 10% a úbytek tělesné hmotnosti cca o 2 kg v období 4 měsíců. Tyto změny v příjmu energie a tělesné hmotnosti nastaly bez ohledu na její zdroj, jakožto přirozený a stejný účinek vykazovalo jak zařazení potravin bohatých na vlákninu, tak i funkčních doplňků stravy (Howarth et al., 2001; Slavin, 2013).

### **3.1.5. Doporučený příjem a zdroje vlákniny**

V západních zemích je všeobecně doporučováno konzumovat 25 g vlákniny denně. Jedná se o hodnotu zaokrouhlenou z doporučení FDA, která stanovila ideální množství na 10 až 13 g vlákniny na 1000 kcal energetického příjmu za předpokladu, že průměrný energetický příjem je cca 2000 kcal (Gleeson et Jeukendrup, 2010). Doporučená denní dávka (DRI) je však vyšší, 14 gramů na 1000 kcal, což v přepočtu odpovídá 25 až 35g vlákniny přijaté z potravy (Rolfes et Whitney, 2011). Běžný denní příjem vlákniny se však ve vyspělých západních zemích od doporučení velmi liší a pohybuje se okolo 15 g denně. Je zajímavé



porovnat tyto hodnoty například s denním příjmem vlákniny v Africe, kde lidé běžně přijímají z potravy 40 až 150g vlákniny (Gleeson et Jeukendrup, 2010).

### **3.1.5.1. Přílišný příjem vlákniny**

Protože potraviny s vysokým obsahem vlákniny jsou natolik syté, není pravděpodobné, že budou konzumovány v přebytku. Obecně nebyl pozorován žádný nežádoucí efekt vyššího příjmu vlákniny na běžnou zdravou populaci, a proto nebyla stanovena žádná horní hranice pro její denní zkonsumované množství. Přesto může mít nadměrný příjem tohoto substrátu několik nevýhod. U osob trpících podvýživou, starších lidí, dětí a veganů, kteří konzumují jen potraviny s vysokým obsahem vlákniny, nemusí tato být tato výživa dostačující pro pokrytí energetických a živinových potřeb. Není dobré také přejít ze stravy s nedostatkem vlákniny náhle jídelníček s jejím vysokým obsahem. Rychlá změna může totiž způsobit dočasné záchvaty zažívacích obtíží jako průjem, plynatost a ve vážnějších případech i obstrukce trávicí trubice. Pro zamezení těchto komplikací při zvyšování obsahu vlákniny ve stravě je nutné navyšovat její konzumaci postupně během několika týdnů, aby se mohl trávicí trakt adaptovat, pít dostatek tekutin pro usnadnění průchodu této složky trávicí trubici a také konzumovat vlákninu z různých zdrojů (Rolfes et Whitney, 2011).

### **3.1.6. Zdroje vlákniny**

Nejčastěji konzumované potraviny nemají obvykle dostatečný obsah vlákniny. Na přijatou porci obvykle připadá okolo 1-3 gramy této složky. Mezi bohaté zdroje vlákniny patří například celozrnné cereálie, ovoce, zelenina a luštěniny. Nižší množství vlákniny pak obsahují i oříšky, mouka a brambory. Mezi oblíbené zdroje této složky v západní dietě patří mouka, celozrnné výrobky a brambory, naopak méně preferované jsou pak luštěniny, ovoce a oříšky. Dalšími alternativními zdroji mohou být vlákninové potravinové doplňky, vlákninou fortifikované potraviny a nedoporučovaná, avšak bohužel zneužívaná, laxativa obsahující vlákninu. Obecně lze zdroje této složky ve výživě člověka rozdělit na vlákninu přirozenou (příjem z potravy) a funkční (příjem z funkčních potravin a potravinových doplňků). Vlákninu pocházející z potravy lze definovat jako nestravitelné sacharidy a lignin, jež se přirozeně vyskytují v rostlinných tkáních v neporušené podobě. Naopak funkční zdroje se obvykle skládají z izolovaných nestravitelných sacharidů, které mají příznivý efekt na fyziologii člověka. Tyto preparáty se řadí mezi takzvané funkční potraviny (Slavin, 2013).

### **3.1.6.1. Funkční zdroje vlákniny**

Doplňování vlákniny do potravin za účelem zvýšení jejího obsahu je známé již delší dobu, především u pečiva a dalších pekařských výrobků, jako jsou sušenky, koláčky a jiné produkty na bázi obilovin. Možnosti fortifikace jiných typů produktů, například nápojů, koření, lehkého jídla, sýrů, omáček, mražených potravin, konzervovaného masa, masných analogů a jiných kategorií, byly také zkoumány. Většina provedených studií se soustředila na použití vedlejších produktů mletí běžně zpracovávaných obilných zrn (pšenice, kukuřice, čirok), jež jsou velmi bohatými zdroji této složky. Existují ale i další potenciální zdroje vlákniny, jako jsou meziproducty a vedlejší produkty zpracování ovoce, zeleniny, luštěnin a méně používaných obilovin jako je ječmen, které jsou potenciálními zdroji potravinových doplňků vlákniny. Použití meziproductů ze zpracování ovoce, zeleniny, luštěnin a dalších těchto materiálů by nejen mohlo zlepšit zdravotní a funkční výhody mnoha potravin, ale také by mohlo poskytnout ekonomické a ekologické přínosy pro potravinářský průmysl (McKee et Latner, 2000).

### **3.1.6.2. Vláknina z ovocných zdrojů**

#### **3.1.6.2.1. Jablečná a hrušková vláknina**

Obsah vlákniny z jablek i hrušek může být zpětně získán při procesu odšťavňování a použit jako složka potravin. Tento produkt se skládá převážně z celulózy, hemicelulózy, pektinu a ligninu a má velkou kapacitu zadržování vody. Potencionální použití jablečné a hruškové vlákniny zahrnuje fortifikaci pečiva a dalších pekařských výrobků, cereálních a mýslí produktů a dále pak krmivářských směsí pro hospodářská i domácí zvířata. Výhodou tohoto materiálu pro určité potravinářské aplikace by mohla být také jeho příjemně nakyslá ovocná chuť. V různých testech byla porovnávána kapacita zadržování vody jablečnou vlákninou s různými typy obilných otrub a výsledky prokázaly, že vazba vody byla v případě jablečné vlákniny mnohem vyšší. Proto byla tato surovina doporučena nejen jako vhodný výživový zdroj vlákniny, ale také jako zvlhčovalo použitelné v pekařském průmyslu (McKee et Latner, 2000; Chen et al., 1988; Carson et al., 1994).

#### **3.1.6.2.2. Citrusová vláknina**

Pevný podíl z kůry a dřeně pomerančů, citronů a grapefruitů, který zůstává po produkci citrusových džusů a šťáv, obsahuje z většího množství nerozpustnou a z menšího množství rozpustnou vlákninu. Jedná se především o pektinové substance, celulózy a hemicelulózy. Citrusová vláknina má velkou kapacitu zadržování vody a ještě vyšší

schopnost absorpce tuků a olejů z potravy. Má rovněž velmi nízkou energetickou hodnotu. Tato surovina by tedy mohla být s výhodou použita jako zdroj dřeně pro nečiré nápoje typu ovocných džusů, a dále pak pro fortifikaci mléčných výrobků, desertů, polévek a dětské výživy. U grapefruitové vlákniny je zajímavé proměnlivé složení během sezóny sklizně, jež během postupu sezóny klesá. Tento faktor by proto měl být uvážěn při přípravě vlákniny z grapefruitových kůr (Larauri et al., 1997).

#### **3.1.6.2.3. Vláknina z marakuji**

Marakuja, neboli mučenka jedlá, je pěstována především na přípravu ovocných džusů. Slupky tohoto ovoce jsou pak vedlejším produktem výroby ovocných džusů a bylo zjištěno, že jsou velmi bohaté na obsah vlákniny, především pektinu. Vláknina z marakuji by tedy mohla být slibným materiálem pro využití ve výrobě fermentovaných mléčných výrobků, neboť je chuťově neutrální a finální výrobek z hlediska organoleptických vlastností negativně neovlivňuje v takové míře, jako například ovesné otruby. O této problematice bude blíže pojednáno v druhé části rešerše (Espírito-Santo, 2012).

#### **3.1.6.3. Inulin**

Inulin patří mezi rozpustnou vlákninu a snadno podléhá fermentaci. Vyskytuje se v rostlinách čeledi hvězdicovitých, u kterých inulin nahrazuje zásobní polysacharid škrob. Inulin a další oligofruktany se skládají z fruktózových jednotek a nejsou v živočišném organismu štěpeny  $\alpha$ -amylázou ani ostatními enzymy horního trávicího traktu, ale v tlustém střevě je silně fermentován bakteriální mikroflórou. Bylo potvrzeno, že inulin selektivně stimuluje růst bifidobakterií, což má za následek snižování počtů patogenních bakterií v tlustém střevě. Tento účinek byl definován jako prebiotický. Mezi nejvýznamnější komerční zdroje této vlákniny patří čekanka (*Cichorium intybus*) a topinambur (*Helianthus tuberosus*). Inulin je nejčastěji používán k získávání potravin s nízkým obsahem tuku a jako přídavek do nízkokalorických ovocných výrobků, například jogurtů, pro svou sladkou chuť. Tato funkční potravinová surovina ovlivňuje biochemické i fyziologické procesy v organismu konzumenta. (Oliveira et al., 2009).

#### **3.1.6.4. Vláknina z obilovin a olejnin**

Účinky vlákniny pocházející z obilných zrn jsou známy již řadu let. Použití pšeničných, ovesných a dalších otrub v pekařských výrobcích má již dlouhou tradici, ale existují i další méně známé zdroje vlákniny s potenciálním využitím v potravinářském průmyslu. (McKee et Latner, 2000).

#### **3.1.6.4.1. Kukuřičná vláknina**

U kukuřičných otrub, které jsou jedním ze čtyř produktů suchého mletí kukuřice, byl zaznamenán celkový obsah vlákniny cca 88% z celkové hm. Tato složka je z drtivé většiny tvořena hemicelulózou a menším podílem celulózy. Její velmi vysoký obsah vlákniny by mohl být příčinou menšího množství suroviny potřebného k vyvolání požadovaného efektu v porovnání např. s otrubami pšeničnými (cca 43% hm), a tím i menšího dopadu na organoleptické a funkční vlastnosti fortifikovaného výrobku. Kukuřičné otruby rovněž prokázaly vysokou schopnost vázat vodu, což by mohlo výrazně prodloužit skladovatelnost obohaceného výrobku (McKee et Latner, 2000).

#### **3.1.6.4.2. Žitná vláknina**

Žitné otruby mají obsah vlákniny cca 33% hm. Ta je především tvořena vlákninou nerozpustnou. Vláknina (rozpustné sloučeniny) tvoří pouze 1,5 % hm. Možné využití žitných otrub v pekařství bylo studováno a bylo zjištěno, že přídavek otrub této suroviny do žitného chleba zvyšuje absorpci vody, dobu vývoje a lepivost těsta, ale snižuje výsledný objem bochníku (McKee at Latner, 2000).

#### **3.1.6.4.3. Ovesná vláknina**

Ovesné otruby mají vysoký obsah rozpustné vlákniny, která se skládá především z  $\beta$ -glukanů.  $\beta$ -glukany jsou lineární, částečně rozpustné polysacharidy, jež se skládají pouze z glukózových jednotek. U této vlákniny specifického složení byly prokázány pozitivní účinky na lidské zdraví, především snižování hladiny sérového cholesterolu a stabilizace hladiny krevní glukózy v krvi (Foschia et al., 2015; Lazaridou et al., 2014). Zároveň byl u ovesa prokázán stimulační účinek na lidský imunitní systém, a tím i zkracování imunitní odpovědi na bakteriální infekční onemocnění. Oves je zároveň i důležitým zdrojem selenu (Coman et al., 2013).

#### **3.1.6.4.4. Rýžová vláknina**

Rýžové otruby, které tvoří vnější vrstvu hnědé rýže, jsou používány jako krmivo pro zvířata. Protože často obsahují různé bakterie, snadno podléhají mikrobiální degradaci. Rýžové otruby stabilizované procesem extruze jsou velmi bohaté na nerozpustnou vlákninu, jejíž obsah kolísá od 25 do 40 % hm. Obsahují rovněž vysoké množství funkčních proteinů a tuků, vitamínů, stopových prvků a antioxidantů. Přítomnost všech těchto živin umožňuje jejich potenciální využití jako nutričních i funkčních surovin v potravinářském průmyslu. (McKee et Latner, 2000).

#### **3.1.6.4.5. Psyllium**

Psyllium je funkční vláknina, jež se získává z obalových vrstev semen jitrocele indického (*Plantago genus*). Je tvořena především rozpustnými složkami (arabinoxylany, jejichž základními stavebními jednotkami jsou arabinóza, galaktóza, galakturonová kyselina a rhamnóza) a má velmi vysokou schopnost vázat vodu, konkrétně až 50 g vody na 1 gram výrobku. (McKee et Latner, 2000). Slupky semen jitrocele indického mají jeden z nejvyšších známých obsahů rozpustné vlákniny, která je tvořena arabinózou, galaktózou, galakturonovou kyselinou a rhamnózou, neboli arabinoxylany. (Foschia et al., 2015; McKee et Latner, 2000). Přídavek psyllia do různých pekařských produktů byl předmětem několika studií a závěry se shodují v tom, že vysoká schopnost vázání vody zlepšovala měkkost a zvyšovala výsledný objem výrobků. (McKee et Latner, 2000). Vliv psyllia na zdraví konzumenta byl rovněž zkoumán a byly u něj prokázány příznivé účinky jako snižování krevního cholesterolu, hyperglykémie a snižování potenciálu vzniku rakoviny tlustého střeva. Jedná se též o účinné laxativum a dalo by se potenciálně využít i jako doplněk při léčbě syndromu dráždivého tračníku (Foschia et al., 2015).

#### **3.1.6.4.6. Lněná vláknina**

Len setý (*Linum usitatissimum* L.) je jednou z ekonomicky nejvýznamnějších olejnin. Lněná semínka jsou rovněž velmi bohatým přírodním zdrojem vlákniny. V porovnání s ostatními obilninami a olejninami mají semínka lnu vyšší celkový obsah vlákniny (27-28 % hm), lignanu a minerálů, ovšem mnohem nižší obsah škrobu, který činí méně než 1,5 % hm. Vzhledem k vysokému nutričnímu potenciálu a nízkému glykemickému indexu jsou semena této olejliny používána jako přídavek do potravin, například pekařských výrobků, mléčných výrobků, nápojů a dalších produktů. Lněná vláknina, která je vedlejším produktem při výrobě lněného oleje, je složena především z glukózy, galaktózy, xylózy a arabinózy. Její využití v potravinářském průmyslu je umožněno především díky charakteristicky nízkému vlivu na viskozitu a organoleptické vlastnosti výrobků (Dong et al., 2014).

#### **3.1.6.4.7. Pohanková vláknina**

Pohanka je pro svoje specifické složení důležitým zdrojem vlákniny s prokázanými příznivými efekty na lidské zdraví. Obsahuje mimo jiné i *D*-chiro Inositol, který vede ke zvýšení inzulínové rezistence. Bylo rovněž zaznamenáno, že metanolový extrakt z pohanky stimuluje růst bakterií mléčného kvašení a zároveň působí inhibičně na *Clostridium Perfringens* a *E. Coli* (Coman et al., 2013).

## 3.2. Probiotické fermentované mléčné výrobky

### 3.2.1. Probiotické mikroorganismy

Slovo probiotikum bylo poprvé použito v roce 1965 Lillym a Stillwellem jako antonymum ke slovu antibiotikum a bylo definováno jako mikrobiální substance schopná stimulovat růst dalšího mikroorganismu. Dnes jsou probiotika jsou nejčastěji definovány jako živé mikroorganismy, které pokud jsou konzumovány v dostatečném množství, mají příznivý vliv na zdraví hostitele (Butel, 2013).

Jiná definice popisuje probiotika jako živé mikroorganismy, které v dostatečném počtu dokážou dosáhnout tlustého střeva v aktivním stavu, aby se projevíly pozitivní účinky na zdraví konzumenta (DeVrese et Schrezenmeir, 2008).

Éra studia probiotik začala výzkumem Ilji Mečnikova, který připsal na počátku 20. století dlouhověkost obyvatel Bulharska jejich pravidelné konzumaci kysaných mléčných výrobků a kefíru. Na základě svých pozorování stanovil hypotézu o tom, že ne všechny mikroorganismy jsou zdraví škodlivé a že nahrazení hnilobné flóry bakteriemi schopnými fermentovat glukózu by mělo prospěšné účinky pro lidský organismus. Přibližně v stejné době popsal francouzský pediatr Henry Tissier bakterie charakteristického ypsilónkovitého tvaru, které byly jen v malém počtu zastoupeny ve stolici dětí trpících průjemovými onemocněními. Naopak ve stolici zdravých dětí byly mikroorganismy tohoto tvaru dominantní. Díky tomuto poznatku dokonce navrhl, aby děti trpící pravidelnými průjmy preventivně pily 1 až 2 sklenice čisté kultury „*Bacillus acidiparalactici*“ nejlépe v kombinaci s kulturou „*Bacillus bifidus*“, pro rychlé vybudování preventivní střevní mikroflóry. Tento probiotický princip je ve skutečnosti velmi starý, již ve 12. století bylo kysané mléko považováno jako zdroj zdraví a síly a mongolské ženy jím sprejovaly muže a koně před bitvami za účelem jejich ochrany. Tento koncept prospěšných bakterií byl takřka zapomenut s objevem antibiotik a vakcín, ale poté se stal znovu zajímavým (Butel 2013)

Pracovní skupina World Health Organization (WHO) a Food and Agriculture Organization (FAO) se zabývala charakterizací bakteriálních kmenů, jež by se daly označit jako probiotické. Došli k závěrům, že kmen musí být v první řadě schopný dosáhnout místa účinku (nejčastěji tlustého střeva) a přežít veškerý fyziologický stres spojený s průchodem lidským gastrointestinálním traktem. Mezi tyto faktory trávicího procesu negativně ovlivňující životnost mikroorganismů obecně patří kyselé žaludeční pH, jiné pH v tenkém střevě a přítomnost žlučových solí a kyselin. Probiotický mikroorganismus musí dále prokázat blahodárné účinky na zdraví konzumenta a jejich požití nesmí pro konzumenta představovat

žádné zdravotní riziko. Kromě těchto charakteristik musí být také vybraný bakteriální kmen schopný udržet si svoje vlastnosti během výrobního procesu (Butel, 2013).

Mezi tyto kmeny bakterií, které tato kritéria splňují, patří například *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium* a některé kmeny *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus acidophilus*. Dalšími jsou pak kmeny rodů *Enterococcus*, *Streptococcus* a *Leuconostoc*. Kromě BMK mohou mít probiotický potenciál i další mikroorganismy, například bakteriální rody *Escherichia coli* a *Propionibacterium*. Nejsou však tak často využívány, protože je u nich vyšší riziko potenciálních nežádoucích účinků, stejně jako u bakterií rodu *Enterococcus*. U těchto mikroorganismů může dojít k translokaci (průchodu z lumenu střeva do ostatních částí organismu) a tím k systémové infekci hostitele, ačkoli jsou tyto případy vzácné. Popsané potíže se objevily pouze u pacientů se specifickými zdravotními problémy, například syndromem krátkého střeva nebo centrálním žilním katetrem. Kromě bakterií prokázaly probiotický potenciál také kvasinky, například *Saccharomyces boulardii* (Butel, 2013; DeVrese et Schrezenmeir, 2008).

Řada těchto probiotických mikroorganismů se používá k přípravě probiotických potravin, především fermentovaných mléčných výrobků. U některých je možné i využití v medicíně. Probiotikům jsou připisovány mnohé zdravotní přínosy, například přechodná modulace střevní mikroflóry či interakce s imunitním systémem. Popsané benefity jsou čím dál tím více podporovány v rostoucím počtu in vivo a in vitro studií a dokonce i některými klinicky intervenčními pracemi s lidskými dobrovolníky. Mezi ověřené zdravotní efekty probiotik patří prevence či snížení trvání rozvorových průjmů a úleva od příznaků laktóзовé intolerance, redukce koncentrace rakovinotvorných enzymů a metabolitů v trávicím traktu, vytlačování patogenních bakterií trávicího traktu a zabraňování jejich možnému přemnožení, úlevu od zácpy a jiných projevů syndromu dráždivého tračníku, prevence a zmírnění příznaků alergií a atopických onemocnění u dětí. Dále byl zaznamenán příznivý účinek probiotik na Crohnovu chorobu, ulcerózní kolitidu, některé virové gastroenteritidy, pouchitidu a nekrotizující enterokolitidu. Bylo také pozorováno, že některé probiotické mikroorganismy vylučují řadu antimikrobiálních substancí, jež podporují fungování imunitního systému. Protože však všem mechanismům účinku probiotik na lidské zdraví není ještě zcela porozuměno, tato zdravotní tvrzení o jejich příznivých účincích nebyla ještě oficiálně přijata Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA) (Butel, 2013; DeVrese et Schrezenmeir, 2008; Vitetta et al., 2014).

Příznivé účinky pravidelné konzumace potravin s obsahem probiotik jsou často popisovány. Mezi nejčastěji používané druhy probiotických bakterií v potravinářském

průmyslu patří rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* spp. Používají se nejčastěji při přípravě fermentovaných mléčných výrobků, kde jsou mnohdy deklarovány výrobci na obalech, ačkoli jejich obsah v daném výrobku není dostačující pro vznik probiotického účinku (Schaper et al., 2014). Tyto příznivé účinky jsou stále silněji podporovány vědeckou evidencí, ale k vyvolání probiotického účinku je potřeba určitého množství těchto živých buněk. Legislativou Evropské unie bylo stanoveno požadované množství probiotik na  $10^6$  až  $10^7$  kolonií tvořících jednotek na jeden gram nebo mililitr probiotického výrobku (Schaper et al., 2014). Některé materiály dokonce uvádějí vyšší množství pro vyvolání terapeutického účinku (Oliveira et al., 2009).

### **3.2.2. Technologie výroby fermentovaných mléčných výrobků**

Podle Mezinárodní mlékařské federace (IDF) je fermentovaný mléčný výrobek definován jako mléčný výrobek připravený z odstředěného či neodstředěného mléka s přidavkem určité mikrobiální kultury. Tato kultura zůstává živá až do prodeje výrobku zákazníkovi a nesmí obsahovat žádné patogenní bakterie (Oberman et Libudzisz, 1997).

Původ kysaných mléčných výrobků je nejasný a sahá do období cca před 10, až 15 tisíci lety, kdy člověk přešel ze sběru plodin na zemědělskou výrobu a tento proces souvisel i s domestikací skotu, koz, ovcí, buvolů a velbloudů. Tento přechod se projevoval v různých částech světa v různých obdobích, ale archeologická evidence dokládá, že starobylé civilizace jako Sumérové a Babylóňané v Mezopotámii, Pharové v jihovýchodní Africe i původní obyvatelé Ameriky, byly ve výrobě jogurtů a kysaných mlék velmi pokročilé (Tamine et Marshall, 1997). Zmínky o těchto výrobcích můžeme najít i v Bibli a hinduistických knihách. FMV byly vyvíjeny po celém světě za účelem konzervace mléka před kažením a dnes je portfolio kysaných mléčných výrobků velmi široké a sahá od tradičních domácích kysaných mlék až po výrobky, připravované pomocí nejmodernějších technologií výrobních procesů. Již v minulosti byly FMV považovány nejen za potravinářské výrobky se specifickými vlastnostmi, ale také za léky. Proslulí lékaři jako Hippocrates, Avicenna a Galen je předepisovali jako léčbu na různá onemocnění trávicího traktu (Oberman et Libudzisz, 1997).

Výroba fermentovaných mléčných výrobků se pravděpodobně vyvíjela přes použití stále stejných nádob případně přídavek čerstvého mléka do mléka kysajícího, čímž se využívalo stimulační účinky přirozené mikroflóry mléka podléhající fermentaci. Dále je možné, že mléko bylo zaočkováno kysaným produktem z předchozích dní a následně ohříváno na otevřeném ohni, čímž došlo k urychlení fermentace. Z těchto důvodů se mikroflóra kysaných mléčných výrobků z různých částí světa lišila v závislosti na klimatických podmínkách



jednotlivých oblastí. Specificky definovaná mikroflóra mlékařské kultury se začala ve výrobě FMV využívat až po roce 1900. Dnes je výroba FMV komplexním procesem, který kombinuje několik disciplín, především mikrobiologii, enzymologii, chemii, biochemii, fyziku a strojírenství. Po celém světě existuje cca 400 různých názvů pro tradiční i průmyslově vyráběné fermentované mléčné výrobky, ale v zásadě se jedná o velmi podobné produkty. Ty mohou být rozděleny do tří kategorií podle metabolických produktů mikroorganismů, jejichž pomocí jsou vyráběny. Jedná se o produkty vzniklé za účasti BMK (mléčné kvašení), kombinací BMK a kvasinek (mléčné a alkoholové kvašení) a kombinací BMK a plísní. Výrobky kysané BMK jsou ještě dále děleny podle použité startovací kultury na mezofilní a termofilní. Mezi produkty kysané kombinací mléčného a alkoholového kvašení patří například kefir a kumys. Mezi produkty kombinující kultury BMK s plísněmi lze zařadit například skandinávský mléčný nápoj zvaný viili, který využívá kromě jogurtové kultury ještě plíseň *Geotrichum candidum* (Tamine et Marshall, 1997). Fermentované mléčné výrobky obsahují živé buňky bakterií mléčného kvašení, které by měly být na konci doby trvanlivosti přítomny ve výrobcích ve vysokém množství od  $10^6$ - $10^9$  kolonie tvořících jednotek v 1 gramu výrobku. Splnění tohoto legislativního požadavku klade vysoké požadavky na výchozí surovinu, technologický proces samotné výroby a dodržování hygienických podmínek během výroby (Bylund, 1995).

### **3.2.2.1. Příprava výrobní směsi**

Výchozí surovina musí vytvářet vhodné podmínky pro rozvoj růstu použité mlékárenské kultury. Nejdůležitějším parametrem je také přítomnost reziduí inhibičních látek v mléce, které pro svoje bakteriostatické a bakteriocidní účinky zcela znemožňují výrobu FMV. Nežádoucí je také vysoký počet psychrofilních mikroorganismů, které produkují metabolity inhibující růst BMK čistých mlékárenských startérů a také termorezistentní enzymy způsobující vady finálních výrobků. Příznivě naopak působí obsah tukuprosté sušiny (nad 8,9 % hm) a obsah laktózy a kyseliny citrónové v mléce. Pro dosažení těchto vlastností mléka je zapotřebí několika metod používaných ke standardizaci suroviny pro výrobu mléčných výrobků. Nejprve jsou z ní odstraněny nečistoty, somatické a bakteriální buňky filtrací nebo odstředěním a poté je upraven obsah tukuprosté sušiny a tuku standardizací, případně přimícháním dalších komponent. Při výrobě některých FMV přidáváme různé aditivní látky za účelem dosažení určitých reologických vlastností. Například přídavek stabilizátorů na bázi hydrokoloidů snižuje odlučování syrovátky u finálních produktů. Takto

připravená směs je následně homogenizována a tepelně ošetřena, což umožňuje usmrcení patogenních mikroorganismů a inaktivace antimikrobiálních látek v mléce. Dalším účelem pasterace mléka pro výrobu FMV je denaturace více než 80 % syrovátkových bílkovin, která snižuje odlučování syrovátky ve finálním produktu a dává vzniknout jemnější konzistenci (Bylund, 1995).

### **3.2.2.2. Inokuce mlékařskou kulturou**

Po tepelném ošetření je výrobní směs nutno zchladit na optimální teplotu růstu vybraného zákysu. U diskontinuálního procesu je mléko zchlazeno přímo ve víceúčelovém tanku, u kontinuálního dochází k ochlazení ve speciálních sekcích pastéru a poté k čerpání do fermentačního tanku. Inokuce v současné době probíhá s využitím čistých mlékářských kultur, většinou v lyofilizované formě (Bylund, 1995).

### **3.2.2.3. Fermentace**

Fermentace zaočkované výrobní směsi probíhá v závislosti na technologickém postupu buď přímo ve spotřebitelském balení („set-type produkty“), nebo ve fermentačním tanku („stirred-type“ produkty). Principem vzniku FMV je koagulace kaseinu v jeho izoelektrickém bodě (pH 4,6) účinkem kyselin produkovaných při štěpení laktózy mikroorganismy mlékářských kultur.

Při průběhu fermentace ve spotřebitelském balení jsou nejprve do obalu přidány aroma a aditivní látky a po naplnění jsou obaly umístěny do zařízení, kde fermentace probíhá (fermentační skříň, tunel, místnost). Tento postup dává vzniknout výrobkům s pevným nerozmíchaným koagulátem, které jsou po dosažení finální hodnoty pH 4,5 (izoelektrický bod kaseinu) chlazeny na teplotu 18-20 O C a následně na skladovací teplotu.

Při fermentaci probíhající ve fermentačním tanku je vzniklý koagulát dále zpracováván. Po dosažení pH 4,5-4,7 je výrobek nejprve zchlazen na teplotu 22 O C a struktura gelu je následně narušována šetrným mícháním. Poté je koagulát přečerpáván do zásobního tanku, odkud je poté vychlazen na skladovací teplotu a plněn do finálních spotřebitelských obalů. Tento postup je typický pro výrobky s rozmíchaným koagulátem. Ochucené produkty jsou s ochucující složkou obvykle míchány v zásobním tanku, nebo je předem dávkována do spotřebitelských obalů (Bylund, 1995).

#### **3.2.2.4. Procesy probíhající při fermentaci**

Nejdůležitějším biochemickým procesem probíhající při výrobě FMV je fermentace laktózy. Dochází při něm k rozkladu tohoto disacharidu a jedná se o anaerobní enzymatický proces, který je základní biologickou metodou konzervace. Pokud je laktóza štěpena mikroorganismy pouze cestou glykolýzy za vzniku kyseliny mléčné, jde o homofermentativní mléčné kvašení. Pokud mikroorganismy používají k fermentaci laktózy pentózový cyklus, jedná se o kvašení heterofermentativní. Heterofermentativním kvašením vzniká kromě kyseliny mléčné i celá řada aromatických látek s rozdílnými senzoryckými charakteristikami. U některých FMV je využíváno i fermentačních schopností kvasinek, především rodu *Torula*, které jsou schopné štěpit glukózu za vzniku etanolu a oxidu uhličitého. Mezi tyto výrobky, které obsahují oxid uhličitý, patří kefir a kumys, může obsahovat dokonce až 3 % obj. ethanolu.

Fermentační procesy laktózy mají vliv i na změny konformace proteinů a mají tak vliv na texturní a další reologické vlastnosti konečných produktů. Degradace laktózy za vzniku kyseliny mléčné vede ke snižování pH až do izoelektrického bodu kaseinu, což vede k jeho vysrážení a vzniku typické gelové konzistence. Na tuky nemá fermentační proces velký vliv, pouze je jemně zvýšen počet volných mastných kyselin (Fox et McSweeney, 1998).

#### **3.2.3. Zdravotní přínosy fermentovaných mléčných výrobků**

Jak již bylo řečeno výše, lidstvo konzumuje fermentované mléčné výrobky pro jejich příznivé účinky na zdraví již velmi dlouhou dobu. Jejich spotřeba se však začala zaznamenávat až od roku 1966 Mezinárodní mlékařskou federací. Během posledních desetiletí se spotřeba FMV značně rozšířila, pravděpodobně pro lepší osvětové i marketingové komunikace jejich vnímaných zdravotních přínosů. Tento trend je patrn nejvíce u jogurtů, které jsou vnímány jako zdravé přírodní produkty a jejichž rozmanitost na trhu je obrovská (Fernandes et al., 1992).

Mezi příznivé zdravotní účinky FMV patří hypocholesterolemický efekt, který byl předmětem mnoha různých klinických studií. V závěrech bylo shrnuto, že pravidelný příjem probiotických bakterií obsažených v kysaných mléčných výrobcích snižuje koncentraci sérového cholesterolu, především LDL, za souhlasného zvýšení hladiny HDL cholesterolu, kterému jsou připisovány příznivé účinky. Oba tyto efekty nastaly za předpokladu, že FMV byly konzumovány pravidelně po delší časové období (minimálně 6 měsíců). Mechanismus stojící za tímto účinkem nebyl ještě zcela objasněn, ale předpokládáno, že určité kmeny

probiotických mikroorganismů přidávaných do kysaných mléčných výrobků dokáží metabolizovat cholesterol a tím snižovat jeho vstřebávání v trávicím traktu. Tyto účinky však nebyly prokázány u všech probiotických mikroorganismů používaných do mléčných výrobků. Lepších výsledků bylo dosaženo s probioickými FMV, jejichž startovací kultura obsahuje *Streptococcus thermophilus* a *Enterococcus faecium*, naopak u jogurtů ferementovaných pomocí kombinované kultury obsahující *Streptococcus thermophius* společně s *Lactobacillus acidophilus* či *rhamnosus* nebyl hypocholesteridemický účinek prokázán (Ebringer et al., 2008).

Mezi další příznivé účinky na zdraví patří antioxidační účinek. Volné radikály vznikají v lidském těle po styku s cizorodými látkami z potravin i prostředí a tělu vlastní antioxidační mechanismy je neutralizují. Pokud však z nějakého důvodu nejsou tyto radikály dostatečně a rychle zhášeny, mohou způsobit ničivé nebo až smrtelné účinky na buňky organismu, jako je například apoptóza, oxidace lipidů buněčných membrán, proteinů, enzymů i DNA. Tyto mechanismy oxidačního stresu stojí mimo jiné za rozvojem civilizačních chorob jako jsou alergie, ateroskleróza, rakovina a Alzheimerova choroba. Antioxidační mechanismy lidského těla netvoří jen endogenní antioxidanty, ale také antioxidanty přijaté z potravy jako jsou vitamín C, E, karotenoidy, flavonoidy, selen a další. V poslední době bylo dokázáno, že antioxidační aktivitu vykazují i některé probiotické mikroorganismy přidávané do FMV. Podle mnohých provedených studií dokáží urychlit zotavení z deficiencie vitamínu E nebo utlumit peroxidaci lipidů pomocí pohlcování reaktivních forem kyslíku. Tento účinek byl prokázán především u jogurtové kultury. Vyšší antioxidační aktivita fermentovaných mléčných výrobků byla prokázána i v porovnání s čistým mlékem. Kozí mléčný produkt fermentovaný kulturou obsahující *Lactobacillus fermentum* prokázal oproti nekysanému mléku výrazné zvýšení celkové antioxidační aktivity krve a snížení hladiny peroxidovaných lipoproteinů oproti produktu, který nebyl fermentován. Antioxidační účinky byly prokázány také u mléčných proteinů, jako jsou  $\alpha$ -laktalbumin,  $\beta$ -laktoglobulin a  $\alpha$ -kasein (Ebringer et al., 2008).

#### **3.2.4. Fermentované mléčné výrobky obohacené o vlákninu**

Synergický účinek probiotik a prebiotik je velmi pravděpodobný, protože prebiotika podporují růst a aktivitu probiotických mikroorganismů. Výše zmíněný inulin a dále také laktulóza, oligofruktóza a polydextróza patří mezi prebiotika s prokázanou schopností zvyšovat počty probiotických kmenů. Kromě těchto prokázaných zdrojů existuje mnoho surovin s potenciálními prebiotickými účinky, jako například otruby různých obilovin jako

pohanka či oves (Coman et al., 2013; Lazaridou et al., 2014) či ovocná vláknina, která vzniká jako vedlejší produkt výroby ovocných nápojů a způsobuje tak různé problémy z hlediska životního prostředí a ekonomických ztrát. Mezi nejslibnější vedlejší ovocnářské produkty patří slupky jablek, banánů a marakuji kvůli jejich obsahu rozpustných i nerozpustných složek, pektinů a fruktooligosacharidů (Esprító Santo et al., 2012).

Přídavek vlákniny do FMV byl pro své zdravotní přínosy a prebiotický potenciál předmětem několika studií, kde byl hodnocen vliv vlákniny na technologické, organoleptické a senzorické vlastnosti finálních produktů a jejich lipidový profil mastných kyselin (Espírito-Santo et al., 2012 et 2013).

#### **3.2.4.1. Využití vlákniny ovocného původu při přípravě fermentovaných mléčných výrobků**

Esprító-Santo a kol (2012) charakterizovali vliv vlákniny ovocného původu (z jablek, banánů a marakuji) a vybrané charakteristiky probiotické jogurtu. Bylo zjištěno, že přídavek těchto substrátů způsobil významný pokles výchozího pH mléka ještě před zaočkováním startovací kulturou, a tím byl snížen počet hodin nutný pro fermentaci. Fortifikace vlákninou z banánů a marakuji dále zvýšil titrační kyselost produktu oproti čistému standardu připravenému bez fortifikace tímto substrátem. Jablečná a banánová vláknina zároveň pomohla zachovat životaschopnost probiotických kmenů až do 4. týdne uchovávání v chladírenských teplotách a všechny vzorky s přídavkem vlákniny měly vyšší obsah mastných kyselin s krátkým řetězcem a polynenasycených mastných kyselin v porovnání se standardem tuto složku neobsahujícím. Nejvýraznější změna profilu mastných kyselin byla zaznamenána u jogurtů obohacených vlákninou z banánových slupek, kde byl obsah  $\alpha$ -linolenové kyseliny pozoruhodně vyšší než u kontrolní skupiny čistých jogurtů. Vyšší obsah této omega-3 mastné kyseliny ve fortifikovaných produktech byl vysvětlen vysokým zastoupením této kyseliny v použitých vlákninách (Esprító-Santo et al., 2012).

Změny profilů mastných kyselin s krátkým řetězcem byly vysvětleny faktem, že ovocná vláknina je bohatým zdrojem pektinů a fruktooligosacharidů, jež jsou probiotickými mikroorganismy fermentovány za vzniku těchto mastných kyselin podobně jako v tlustém střevě člověka. Těmito výsledky byly potvrzeny také dříve prováděné studie (Esprító-Santo et al., 2012; Macfarlane et Macfarlane, 2003; Edwards et Parrett, 2002).

Senzorické analýze byly podrobeny jogurty s přídavkem marakujové vlákniny a jejich hodnocení bylo prokázáno oproti čistým jogurtům jako neutrální či dobré a intenzita marakujové chuti nebyla hodnotiteli negativně vnímána. Tyto výsledky naznačují, že přídavek

marakujové vlákniny v koncentraci 1g na 100 ml výrobku je téměř neutrální ingredience a má tudíž slibné využití v obohacování fermentovaných mléčných výrobků (Esprítito-Santo et al., 2013).

#### **3.2.4.2. Využití obilné vlákniny při přípravě fermentovaných mléčných výrobků**

Nutriční složení ovesných otrub a pohanky, jenž zahrnuje komplexní sacharidy, proteiny, důležité vitamíny, minerály a také antioxidanty, z nich činí velmi slibné substráty jak pro člověka, tak pro probiotické mikroorganismy. Vliv přídavku ovesných otrub a pohanky byl předmětem studie Comana a kol (2013), kteří zkoumali průběh kysání obohacených FMV, jejich sensorické charakteristiky a přežívání probiotických bakterií po dobu 28 dní. Bylo zjištěno, že fortifikace složkami zrychlovala pokles pH při fermentačním procesu, přičemž tento vliv byl nejvýraznější u pohanky. Rovněž byl u obohacených FMV vyšší počet bakterií než u kontrolní skupiny produktů, a byla zvýšena i jejich stabilita po dobu skladování 28 dní. Tyto závěry jsou připisovány vyššímu obsahu živin u fortifikovaných produktů, jež jsou probiotickými mikroorganismy fermentovány za vzniku kyselin nejen při samotném procesu fermentace, ale při době skladování, což zvyšuje schopnost přežívání těchto mikroorganismů (Coman et al., 2013).

Při sensorické analýze byly výrobky obsahující oba zdroje vlákniny až na nepatrné změny především v intenzitě kyselé a mléčné chuti hodnotiteli pozitivně přijímány, především ty obohacené o ovesné otruby. Není však jasné, jak moc bylo pozitivní hodnocení ovlivněno také přídavkem zeleninového extraktu, který byl do výrobku přidáván na zlepšení celkové chuti (Coman et al., 2013). Podobné pozitivní výsledky sensorické analýzy se již vyskytly ve studii hodnotící přídavek všech komerčně dostupných zdrojů vláknin na tehdejší trhu, kde měly jediné výrobky obohacené o ovesné otruby pozitivnější hodnocení oproti kontrolním čistým výrobkům. Auroři Fernández-García a McGregor (1997) rovněž zaznamenali vliv na složení mastných kyselin s krátkým řetězcem (konkrétně se jednalo o kyselinu propanovou a octovou), který byl prokazatelně vyšší u všech výrobků s přídavkem vlákniny (Fernández-García et McGregor, 1997).

#### **3.2.4.3. Využití vlákniny při výrobě regionálních produktů**

Přídavek různých typů vláknin do FMV byl předmětem studií nejen u celosvětově dostupných produktů, jako jsou jogurty a acidofilní mléka, ale také u regionálních specialit. Jeden z těchto výrobků se nazývá *mistidahi* a jedná se o indickou obdobu slazeného karamelového jogurtu, získávaného z buvolího mléka. Ve studii Raju a Pala (2014) byl zkoumán vliv přídavku ovesných otrub, inulinu a sójové vlákniny a mezi sledovanými

parametry byly senzoričké vlastnosti, kyselost a vodní aktivita a intenzita odlučování syrovátky. Na rozdíl od předchozích popsaných prací byly produkty obohacené o vlákninu ovesných otrub a inulinu v senzoričké analýze hodnoceny hůře než čisté *mistidahi*, na rozdíl od sójové vlákniny, jež byla oproti kontrolnímu výrobku přijímána lépe. Výsledná kyselost a vodní aktivita byla u obohacených výrobků vždy vyšší než u nebohacených a odlučování syrovátky bylo nejvýrazněji zredukované při přidavku sójové vlákniny, což bylo autory zdůvodněno vysokou schopností vázání vody u tohoto substrátu, čímž dojde k narušení gelové struktury, jež odlučování syrovátky způsobuje. Vyšší kyselost byla vysvětlena obsahem rozpustné vlákniny, jež je mikroorganismy snadno fermentována za vzniku organických kyselin. V závěrech studie bylo uvedeno, že potenciál při průmyslové produkci obohaceného *mistidahi* má vláknina sójová a inulin, ale ovesné otruby tvořící typickou usazeninu na dně produktu by nebyly spotřebiteli příznivě přijímán (Raju et al., 2014).

#### **3.2.4.4. Terapeutické využití FMV s obsahem vlákniny**

Pro své prokazatelné příznivé účinky byly tyto FMV obohacené vlákninou předmětem studií ohledně jejich hypotetického využití v medicíně. Jedna z takových studií se zabývala možností jejich využití v léčbě syndromu dráždivého tračníku, kde se vláknina jako taková a probiotika kontroverzně využívají v některých případech tohoto syndromu, kdy pacienti trpí chronickou zácpou. Výsledky této klinické studie uvádějí, že vlákninou obohacené FMV jsou bezpečné a efektivní při léčbě syndromu dráždivého tračníku s dominantním faktorem zácpy. Dokonce i u skupiny se syndromem s dominantním faktorem průjmy byly zaznamenány malé rozdíly. Ačkoli se nelišil počet defekací, zaznamenali pacienti jistou úlevu od doprovodných projevů břišního nepohodlí, jako jsou křeče a přílišná flatulence. Protože tato studie byla první svého druhu, je nutný další výzkum (Choi et al., 2011).

Dalším možným využitím probiotických FMV fortifikovaných vlákninou se zabývala studie vedená na krysách s nedostatkem chlóru v krvi. Cílem bylo zjistit, zdali příjem probiotických mléčných produktů v kombinaci s galaktooligosacharidy zlepšuje vstřebávání různých minerálů. V závěrech je řečeno, že příjem probiotik (*Lactobacillus* sp) v kombinaci s galaktooligosacharidy zlepšuje synergickým účinkem retenci vápníku, fosforu a železa a že napomáhá ukládání zinku. U pokusných zvířat s hypochloridemií bylo také pozorováno zlepšení kostní tkáně, ačkoli přesný mechanismus stále zůstává nejasný (Takasugi et al., 2013).

## **4. MATERIÁL A METODY**

### **4.1. Materiál a metodika**

Pro přípravu FMV byly použity následující suroviny:

Mléko polotučné (obsah tuku minimálně 1,5 % hm), trvanlivé (ošetřeno vysokotepelem UHT záhřevem datum minimální trvanlivosti 1. 3. 2015, BOHEMILK, a. s., cz

Jablečná vláknina Country Life, s. r. o, CZ

Psyllium (obsah vlákniny 95 % hm), Dr. Staněk s spol., s. r. o

Žitné otruby Country Life, s. r. o, CZ

Inulin (obsah inulinu-rozpustné vlákniny 90 % hm, obsah oligosacharidů 90 % hm), F&N dodavatelé s. r. o., cz

### **4.2. Mlékařské kultury**

Pro přípravu probiotických FMV byly použity následující čisté mlékařské kultury:

Acidofilní kultura Laktoflora<sup>®</sup>, MILCOM, a.s., CZ.

Probiotická kultura Laktoflora<sup>®</sup>, MILCOM, a.s., CZ

### **4.3. Živné půdy**

Pro stanovení počtu mikroorganismů v připravených probiotických FMV byly použity následující živné půdy:

Wilkins Chalgren Agar Oxoid, s. r. o, CZ

Modifikovaný Wilkins Chalgren Agar Oxoid, WSP Mup, CZ

Rogosa Agar Oxoid s. r. o, CZ

### **4.4. Chemikálie**

V diplomové práci byly použity chemikálie o čistotě p. a.

### **4.5. Přístrojové vybavení**

V diplomové práci bylo použito přístrojové vybavení analytické laboratoře. Speciální přístrojové vybavení je uvedeno v následujícím seznamu:

MilkoScan<sup>™</sup> FT 120, FOSS, DE

Termostat Biological termostat BT 120 (Ferrotec, DE)



#### 4.6. Příprava probiotických fermentovaných mléčných výrobků

Byly připraveny 2 typy probiotických FMV s přidavkem 1 % hm vlákniny, acidofilní mléko (acidofilní kultura *Lactobacillus acidophilus*, MILCOM, a.s., CZ) a ABT mléko (probiotická kultura *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp. a *Streptococcus thermophilus*, MILCOM, a.s., CZ). Jako surovina bylo použito polotučné trvanlivé mléko (BOHEMILK, a. s., CZ). Vybranými zdroji nestravitelných složek byla jablečná vláknina (Country Life, CZ), psyllium (Dr. Staněk spol. s r.o., CZ), žitné otruby (Country Life, CZ) a inulin (F&N dodavatelé, s.r.o., CZ). Seznam receptur probiotických FMV je uveden v tabulce

**Tabulka 1 :Seznam receptur probiotických FMV.**

Vzorek	Mlékařská kultura	Vláknina
AS	Acidofilní kultura	Bez vlákniny (standard)
AJ		Jablečná vláknina
AP		Psyllium
AŽ		Žitné otruby
AI		Inulin
PS	Probiotická kultura	Bez vlákniny (standard)
PJ		Jablečná vláknina
PP		Psyllium
PŽ		Žitné otruby
PI		Inulin

Výrobní směs (polotučné trvanlivé mléko (BOHEMILK, a. s., CZ) nebo roztok polotučného trvanlivého mléka (BOHEMILK, a. s., CZ) s přidavkem 1 % hm příslušného druhu vlákniny) byla zaočkována čistou mlékařskou kulturou (MILCOM, a.s., CZ) dle typu produktu. Množství kultury a podmínky kultivace byly zvoleny podle aplikačních listů výrobce (MILCOM, a.s., CZ), pro acidofilní kulturu (3g na 1), 37 °C, 16 – 18 h, pro probiotickou kulturu (1 g na 1 l), 37 °C, 16 – 18 h. Fermentace probíhala vsádkově v termostatu Biological termostat BT 120 (Ferrotec, DE). Vedle mléka obohaceného o vlákniny bylo rovněž oběma kulturami zaočkováno i čisté mléko, které sloužilo jako kontrola. Celkem bylo vytvořeno 10 různých FMV. Od každé receptury byly provedeny 2 paralelní výroby.

#### 4.7. Analytické metody

##### 4.7.1. Infračervená spektroskopie (ČSN 57 0536)

Složení (obsah sušiny, tukuprosté sušiny, tuku, laktózy, hrubých bílkovin a kaseinu) výrobní suroviny (polotučného UHT mléka, výrobce, země původu) bylo stanoveno dle ČSN 57 0536

pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací na přístroji MilkoScan™ FT 120 (FOSS, DE) pomocí programu Improved milk. Kalibrace jednotlivých parametrů byly následující: sušina, tukuprostá sušina vážková metoda, tuk metoda Röse-Gottlieb, laktóza metoda Boehringer-Mannheim, hrubé bílkoviny a kasein Kjeldahlova metoda.

50 ml dobře promíchaného vzorku vytemperovaného na teplotu 40 °C (vodní lázeň MEDINGEN W12, PD Group, DE) bylo vloženo do měřicí jednotky. V programu pro obsluhu přístroje byla vybrána metoda Improved milk a spuštěna analýza. Pro každý vzorek byla provedena 4 paralelní stanovení.

#### **4.7.2. Obsah sušiny (ČSN EN ISO 712; ČSN ISO 6731)**

Pro stanovení obsahu sušiny vlákniny byla použita referenční metoda ČSN EN ISO 712. 5 g vzorku bylo naváženo (analytické váhy Electronic balance ER-180A, A&D, JP) do předem vysušené (elektrická sušárna KCW 100, Labo-ms,CZ) a zvážené (analytické váhy Electronic balance ER-180A, A&D, JP) váženky s víčkem. Připravené váženky se vzorky byly sušeny po dobu  $120 \pm 5$  min při teplotě  $130 \pm 3$  °C (elektrická sušárna KCW 100, Labo-ms, CZ). Po vychladnutí v exsikátoru (min. 45 min) byly zváženy (analytické váhy Electronic balance ER-180A, A&D, JP) a obsah sušiny byl vypočten dle vztahu (1). Pro každý vzorek byla provedena 2 paralelní stanovení.

Pro stanovení obsahu sušiny probiotických FMV byla použita referenční metoda ČSN ISO 6731. 3 g vzorku byly naváženy (analytické váhy Electronic balance ER-180A, A&D, JP) do předem vysušené (elektrická sušárna KCW 100, výrobce, Labo.ms, CZ) a zvážené (analytické váhy Electronic balance ER-180A, A&D, JP) váženky s víčkem obsahující 20 – 25 g mořského písku (Lach-Ner, s.r.o., CZ). Připravené váženky se vzorky byly předsušeny po dobu 30 min a poté sušeny po dobu 3 h při teplotě  $102 \pm 2$  °C (elektrická sušárna KCW 100, výrobce, Labo-ms, CZ). Po vychladnutí v exsikátoru (min. 45 min) byly zváženy (analytické váhy Electronic balance ER-180A, A&D, JP) a obsah sušiny byl vypočten dle vztahu (1). Pro každý vzorek byla provedena 2 paralelní stanovení.

$$s = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \cdot 100 \quad (1),$$

kde  $s$  je obsah sušiny [% hm.],  $m_1$  je hmotnost vzorku po vysušení [g],  $m_0$  je počáteční hmotnost vzorku [g].

#### 4.7.3. Fermentabilita

Stanovení vlivu typu použité vlákniny na kysací schopnost probiotických mlékařských kultur (MILCOM, a.s., CZ) bylo provedeno měřením kysacích křivek. Výrobní směs zaočkovaná příslušnou kulturou (MILCOM, a.s., CZ) dle typu receptury byla kultivována (Biological thermostat BT 120, Ferrotec, CZ při 37 °C po dobu 16 – 20 h. Každou hodinu fermentace byly odebrány vzorky matrice probiotického FMV, u nichž byla stanovena aktivní a titrační kyselost. Pro každou recepturu byla provedena vždy 2 paralelní stanovení.

#### 4.7.4. Aktivní kyselost

Aktivní kyselost, která je definována jako záporný dekadický logaritmus koncentrace H<sup>+</sup> iontů, byla měřena pH metrem (pH 114, Snail Instruments, CZ) se skleněnou elektrodou kalibrovaným pufracími roztoky o pH 4 a 7 ve dvou opakováních pro každý vzorek.

#### 4.7.5. Titrační kyselost dle Soxhlet-Henkela

Pro sestavní fermentačních křivek byly použity naměřené hodnoty titrační a aktivní kyselosti, mezi kterými neexistuje přímý vztah. Titrační kyselost, která se po dobu fermentace zvyšuje, nemá zpočátku velký vliv na pokles pH díky pufrací schopnosti mléka. Po vyčerpání jeho kapacity se však pH mění v závislosti na kyselosti titrační. (Kouřimská, 2007)

Ihned po zaočkování byla u všech typů měřena aktivní a titrační kyselost.

Titrační kyselost je dána spotřebou roztoku hydroxidu sodného o koncentraci 0,25 mol/l potřebnou k neutralizaci kyselých reagujících látek ve 100 ml mléka na indikátor 2% fenolftalein. 10 ml výrobku bylo titrováno předem připraveným odměrným roztokem NaOH (Lach-Ner, s.r.o., CZ) za přídavku 2% roztoku indikátoru fenolftaleinu (Lach-Ner, s.r.o., CZ) do slabě růžového stabilního zbarvení ve dvou opakováních pro každý vzorek. Titrační kyselost vzorků byla následně spočítána podle vztahu (2).

$$TK = 10 * a * f \quad (2),$$

kde *TK* je titrační kyselost [SH], *a* je spotřeba odměrného roztoku NaOH [ml] a *f* je faktor odměrného roztoku (0,8254).

Faktor odměrného roztoku byl stanoven na titrační standard, jímž byl dihydrát kyseliny šťavelové (Lach-Ner, s.r.o., CZ).

#### 4.7.6. Odlučování syrovátky

Množství odloučené syrovátky bylo sledováno během skladovacího pokusu po dobu 28 dní, neboť je to doba trvanlivosti fermentovaných mléčných produktů (doba zvolena dle

předpokládané tržnosti produktů). 40 ml každé receptury bylo odebráno a dokultivováno v plastových odměrkách a kultivováno v termostatu za teploty 37 0C (Biological termostat BT 120, Ferrotec, DE). Fermentační proces byl ukončen zchlazením výrobků pod proudem tekoucí vody. Vzorky byly uchovávány za chladírenských teplot (5 0C). Odečet množství odloučené syrovátky byl proveden druhý den po kultivaci a poté každých 7 dní. Byla provedena 2 paralelní stanovení pro každou recepturu.

#### **4.7.7. Stanovení počtů mikroorganismů (ČSN ISO 6610; Vlková et Rada, 2013)**

Pro stanovení počtu mikroorganismů (*Lactotobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium*) byla použita kultivační plotnová metoda dle ČSN ISO 6610 a Vlkové a Rady (2013). Vzorky sladované při chladírenských teplotách (5 0C) byly den po fermentaci (37 0C, 13 h, Biological termostat BT 120, Ferrotec, DE ) anaerobně naředěny do vialek obsahující Wilkins-Chalgren agar (Oxoid, CZ) v poměru 1:10 až do ředění  $10^{-7}$ , čímž došlo k vytvoření příslušných koncentračních řad. K jejich přípravě bylo stříkačkou odebráno vždy 1 ml produktu či jeho roztoku a převedeno do následující vialky obsahující 9 ml Wilkins-Chalgren agaru (Oxoid, CZ). Z odebraného vzorku byly vždy odstraněny vzduchové bubliny. Takto se postupovalo až do vytvoření nejvyššího ředění pro každý vzorek.

Příslušně naředěné analyty byly poté stříkačkou a jehlou zaneseny na Petriho misky ve dvou opakováních a ihned zality selektivními půdami. Pro stanovení bifidobakterií u výrobků fermentovaných probiotickou kulturou byl použit Modifikovaný Wilkins Chalgren agar s přidavkem sójového peptonu, cysteinu, tweenu a mupirocinu (Oxoid, WSPmup, CZ). Tato živná půda podporuje svým složením růst bifidobakterií a přidavek mupirocinu působí inhibičně na růst ostatních bakterií mléčného kvašení. Petriho misky byly poté umístěny do anaerostatu a kultivovány 72 hodin při teplotě 37 0C. Pro stanovení laktobacilů byl použit Rogosa agar (Oxoid, CZ) jehož pH 5,4 potlačuje růst ostatních baterií. Kultivace probíhá v mikroaerofilním prostředí, kterého je dosaženo dvojitou vrstvou agaru. Po zalití byly Petriho misky umístěny dnem vzhůru do termostatu (Biological termostat BT 120, Ferrotec, DE) a kultivovány za stejných podmínek jako misky s bifidobakteriemi. Od každé výroby bylo provedeno 1 stanovení.

Po 72 hodinách byly narostlé kolonie na jednotlivých miskách spočítány a konečné množství bakterií bylo vypočteno podle vzorce (2)

$$P = [(P_1 + P_2)/11] * F,$$

Kde kde  $P_1$  a  $P_2$  je počet kolonií ve dvou po sobě jdoucích ředěních vzorku [KTJ] a  $F$  je převrácená hodnota vyššího ředění [ $\text{ml}^{-1}$ ].

Výsledek byl poté zlogaritmován a vyjádřen jako logaritmus kolonie tvořících jednotek v 1 ml vzorku [ $\log \text{KTJ/ml}$ ] (ČSN ISO 6610; Vlková et Rada, 2013).

#### **4. 8. Senzorická analýza (ČSN ISO 6658; ČSN ISO 8587)**

Senzorická anlyza vyrobených probiotických FMV s přidavkem vlákniny byla provedena dle ČSN ISO 6658 a ČSN ISO 8587 pomocí pořadového testu s grafickou hedonickou nedělenou stupnicí. Vzorky byly před hodnocením upraveny manuálním rozmícháním koagulátu 20x ve směru hodinových ručiček a 20x proti směru hodinových ručiček. Senzorický panel sestával ze 7 proškolených zdravých hodnotitelů (25 let). Hodnocenými parametry byly: Celkový vzhled, příjemnost vůně, příjemnost konzistence, celková příjemnost chuti, intenzita cizí chuti, intenzita kyselé chuti a celkové hodnocení výrobku. Formulář pro sensorickou analýzu je uveden v příloze 1.

#### **4.9. Statistická analýza**

Soubory dat získané z jednotlivých stanovení byly vyhodnoceny pomocí programů Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, USA) a STATISTICA 12 (StatSoft, USA). Nejprve došlo k vylučování odlehlých výsledků. Následně byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka pro každý produkt v rámci dané analýzy. Rozdíl mezi jednotlivými vzorky byl hodnocen analýzou rozptylu ANOVA na hladině významnosti  $P(\alpha) = 0,05$ . Výsledky stanovení počtu mikroorganismů byly statisticky vyhodnoceny taktéž analýzou rozptylu ANOVA s následným Tukeyho testem na hladině významnosti  $P(\alpha) = 0,05$ . Senzorická analýza byla statisticky hodnocena Friedmanovým testem (neparametrická ANOVA pro více než 2 závislé výběry) na hladině významnosti  $P(\alpha) = 0,05$ .

## 5. VÝSLEDKY

### 5.1. Charakterizace základního složení surovin a výrobků

Stanovení obsahu základních složek polotučného trvanlivého mléka (BOHEMILK, a. s., CZ) bylo provedeno metodou infračervené spektroskopie dle ČSN 57 0536. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.

**Tabulka 2:** Obsah základních složek výrobní suroviny. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ( $A_p$ ) ze 4 paralelních stanovení se směrodatnou odchylkou (SD).

Surovina	Sušina [% hm.]		Tukuprostá sušina [% hm.]		Tuk [% hm.]		Laktóza [% hm.]		Hrubé bílkoviny [% hm.]		Kasein [% hm.]	
	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD
Mléko	10,8	0,1	8,9	0,1	2,0	0,1	5,0	0,1	3,5	0,1	2,6	0,1

Na základě získaných výsledků lze říci, že použitá výrobní surovina splňuje v obsahu hlavních složek deklaraci na obalu.

Stanovení obsahu sušiny vybraných zdrojů vláknin bylo provedeno vázkovou metodou dle ČSN EN ISO 712. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 3.

**Tabulka 3:** Obsah sušiny ve vybraných zdrojích vlákniny. Výsledky jsou uvedeny ve formě  $A_p$  ze 2 paralelních stanovení s SD.

Složka	Jablečná vláknina		Psyllium		Žitné otruby		Inulin	
	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD
Sušina [% hm.]	91,3	0,3	94,5	0,2	87,7	0,3	98,9	0,1

Z hodnot uvedených v tabulce 3 je patrné, že průměrný obsah sušiny u vybraných zdrojů vlákniny se pohyboval v rozmezí od 87 do 99 % hm. Nejvyšší obsah sušiny byl zaznamenán u inulinu (98,9 % hm.), nejnižší pak u žitných otrub (87,7 % hm.).

Stanovení obsahu sušiny připravených probiotických FMV bylo provedeno vázkovou metodou dle ČSN ISO 6731. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4, jejich statistické vyhodnocení v tabulce 5.

**Tabulka 4: Vliv aplikace vlákniny na obsah sušiny připravených probiotických FMV.** Výsledky jsou uvedeny ve formě  $A_p$  ze 2 paralelních stanovení s SD.

Vzorek	Sušina [% hm.]	
	$A_p$	SD
AS	13,7	0,4
AJ	14,4	0,2
AP	14,7	0,2
AŽ	14,4	0,1
AI	14,6	0,5
PS	13,6	0,2
PJ	14,6	0,3
PP	14,7	0,5
PŽ	14,5	0,4
PI	14,6	0,2

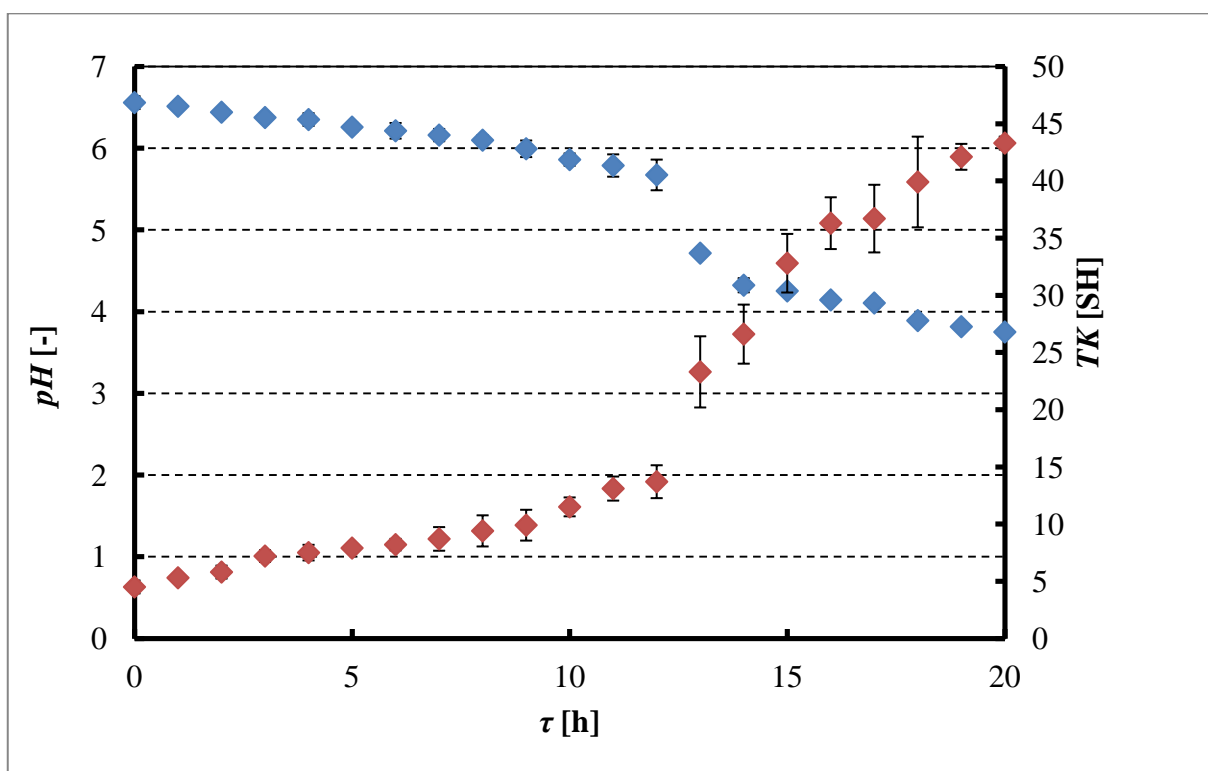
**Tabulka 5: Statistické porovnání vlivu aplikace vlákniny na obsah sušiny v rámci jednoho typu probiotického FMV.  $\alpha = 0,05$ ,  $p_\alpha = 19,00$ .**

Porovnávaný pár vzorků	$p$ [-]
AS – AJ	8,85
<b>AS – AP</b>	<b>20,00</b>
AS – AŽ	14,00
AS – AI	18,00
AJ – AP	3,79
AJ – AŽ	0,00
AJ – AI	2,53
AP – AŽ	6,00
AP – AI	2,00
AŽ – AI	4,00
<b>PS – PJ</b>	<b>20,00</b>
<b>PS – PP</b>	<b>31,11</b>
PS – PŽ	18,00
<b>PS – PI</b>	<b>20,00</b>
PJ – PP	2,83
PJ – PŽ	2,00
PJ – PI	0,00
PP – PŽ	5,66
PP – PI	2,83
PŽ – PI	2,00

Bylo pozorováno, že přidavkem vlákniny vzrostl obsah sušiny připravených probiotických FMV zhruba o 1 % hm. (průměrný obsah sušiny u standardů bez fortifikace byl 13,7 % hm., u obohacených produktů 14,6 % hm.). Statisticky významné ( $p > 0,05$ ) bylo toto navýšení v případě acidofilního mléka s přidavkem psyllia a ABT mléka obsahujícího jablečnou vlákninu, psyllium a inulin.

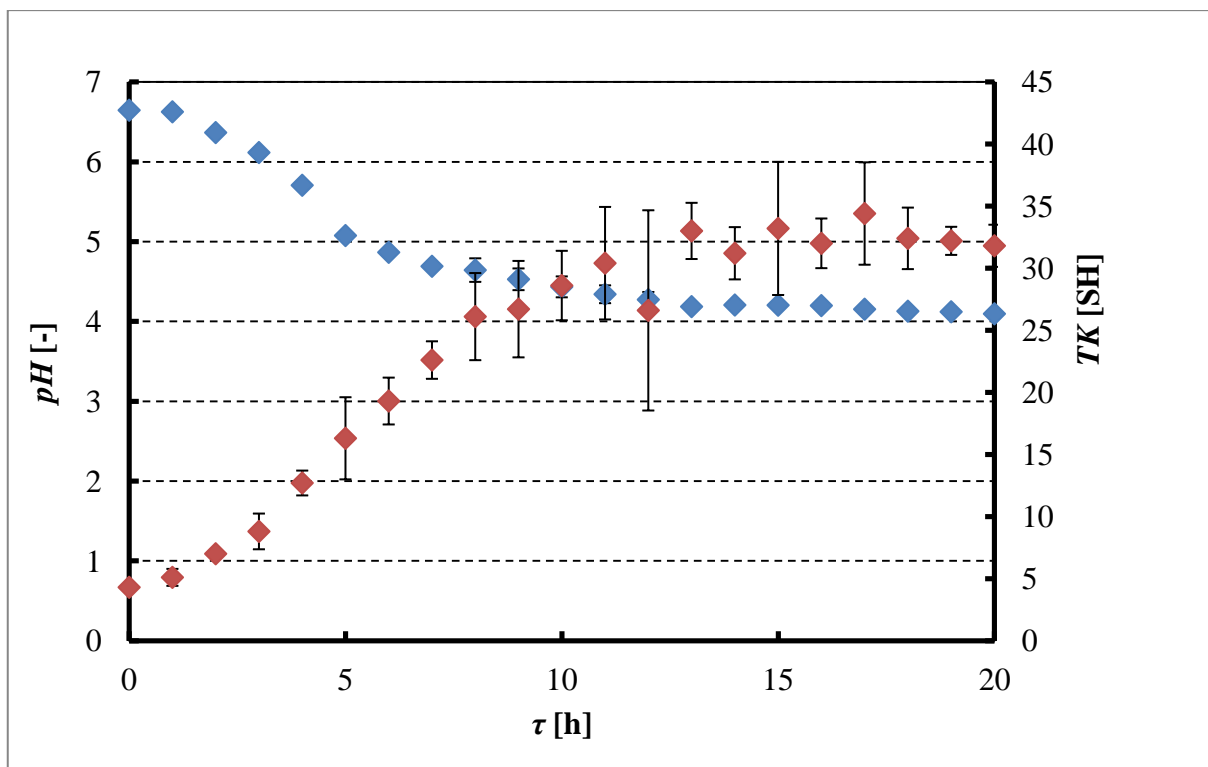
## 5.2. Vliv přídavku vlákniny na kysací schopnost probiotických mléčných kultur

Vliv přídavku 1% hm. vybraných zdrojů vlákniny (jablečná vláknina, psyllium, žitné otruby, inulin) na kysací schopnost čistých probiotických mlékařských kultur byl charakterizován u acidofilního a ABT mléka. Fermentabilita výrobní suroviny byla charakterizována aktivní a titrační kyselostí v průběhu kultivace. Výsledky jsou graficky znázorněny pomocí kysacích křivek na obrázcích 2 až 11. Statistická analýza času potřebného k dosažení isoelektrického bodu kaseinu nebyla pro získané nulové hodnoty prováděna.



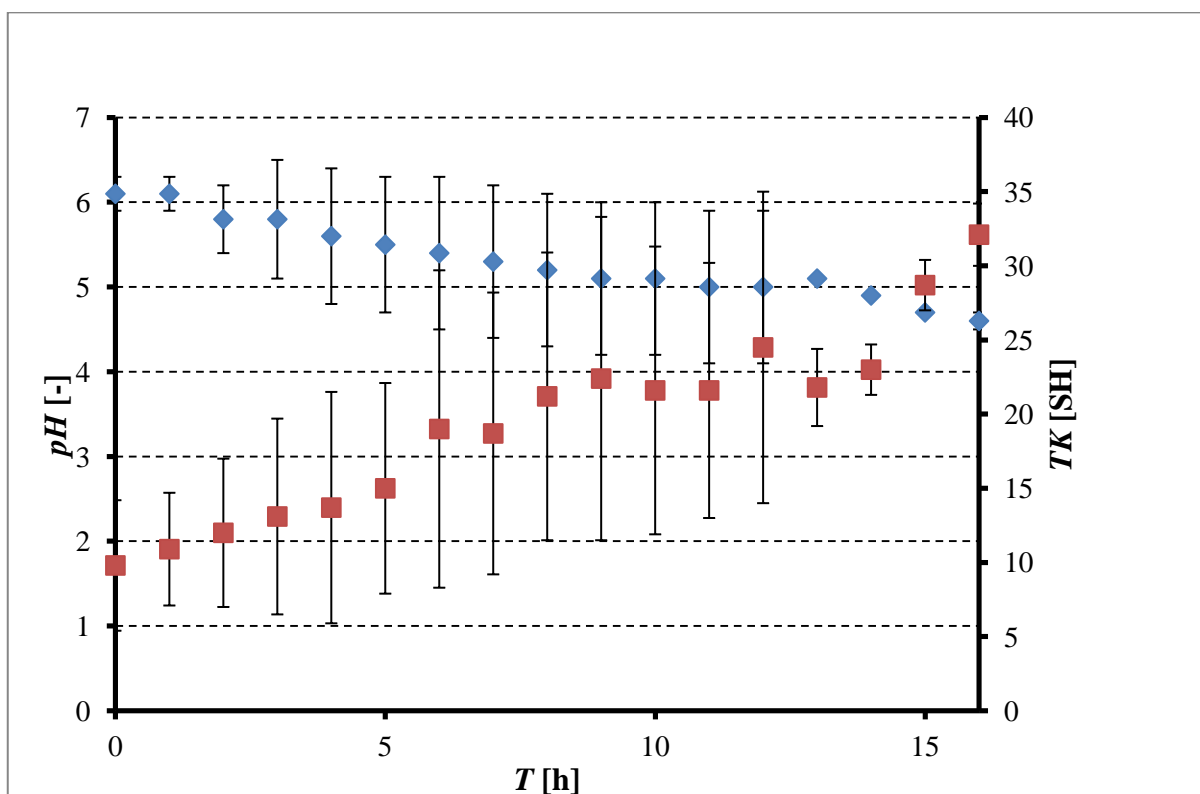
Obrázek 2: Kysací schopnost acidofilní kultury.  $\blacklozenge$  pH [-],  $\blacklozenge$  TK [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako Ap ze 4 paralelních stanovení  $\pm$  SD.



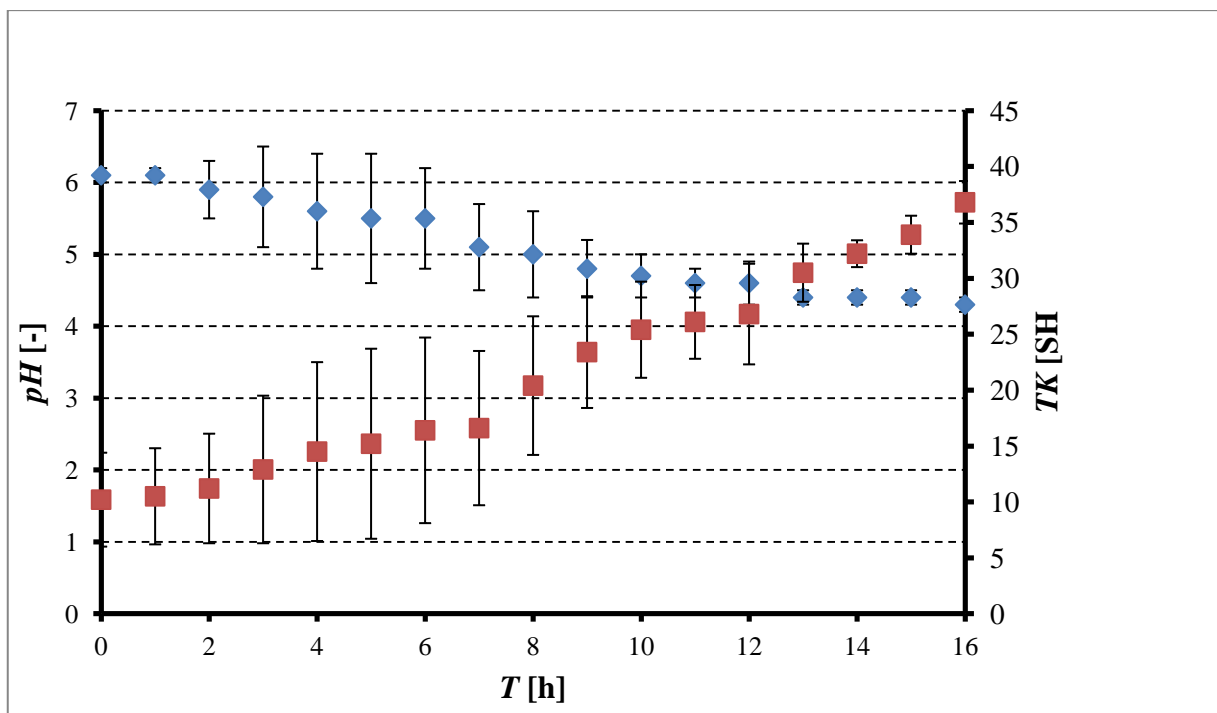


**Obrázek 3: Kysací schopnost ABT kultury.** ♦ pH [-], ♦ TK [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako Ap ze 4 paralelních stanovení ± SD.

U standardních jogurtů bez přídavku vlákniny je na první pohled vidět rozdíl v průběhu kysání u obou kultur. Zatímco acidofilní kultura nemá zpočátku příliš rychlý průběh fermentace, klíčová je pro ni 13. hodina, kdy dojde k prudkému poklesu pH a zároveň nárůstu hodnoty titrační kyselosti. Po dosažení izoelektrického bodu kaseinu (pH 4,6) se pH stále snižuje a titrační za současného zvýšení titrační kyselosti. U probiotické kultury je patrný velmi progresivní počátek fermentace, dosažení pH 4,6 v průběhu 9. hodiny, ale po dosažení této hodnoty již není pokles pH a nárůst titrační kyselosti tolik patrný a pH nedosahuje nižších hodnot než 4.

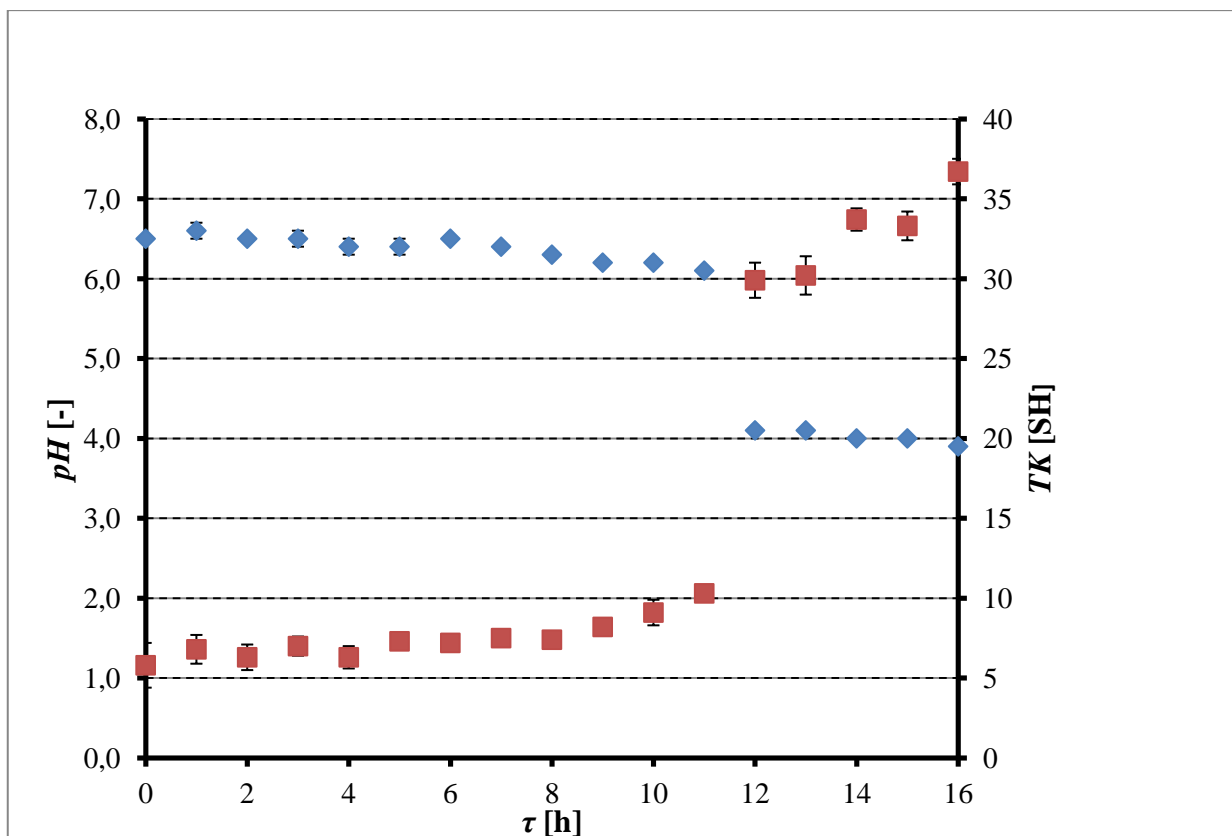


Obrázek 4: Vliv přidavku jablečné vlákniny na kysací schopnost acidofilní kultury. ♦  $pH$  [-], ♦  $TK$  [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako  $\bar{x}$  ze 4 paralelních stanovení  $\pm$  SD.

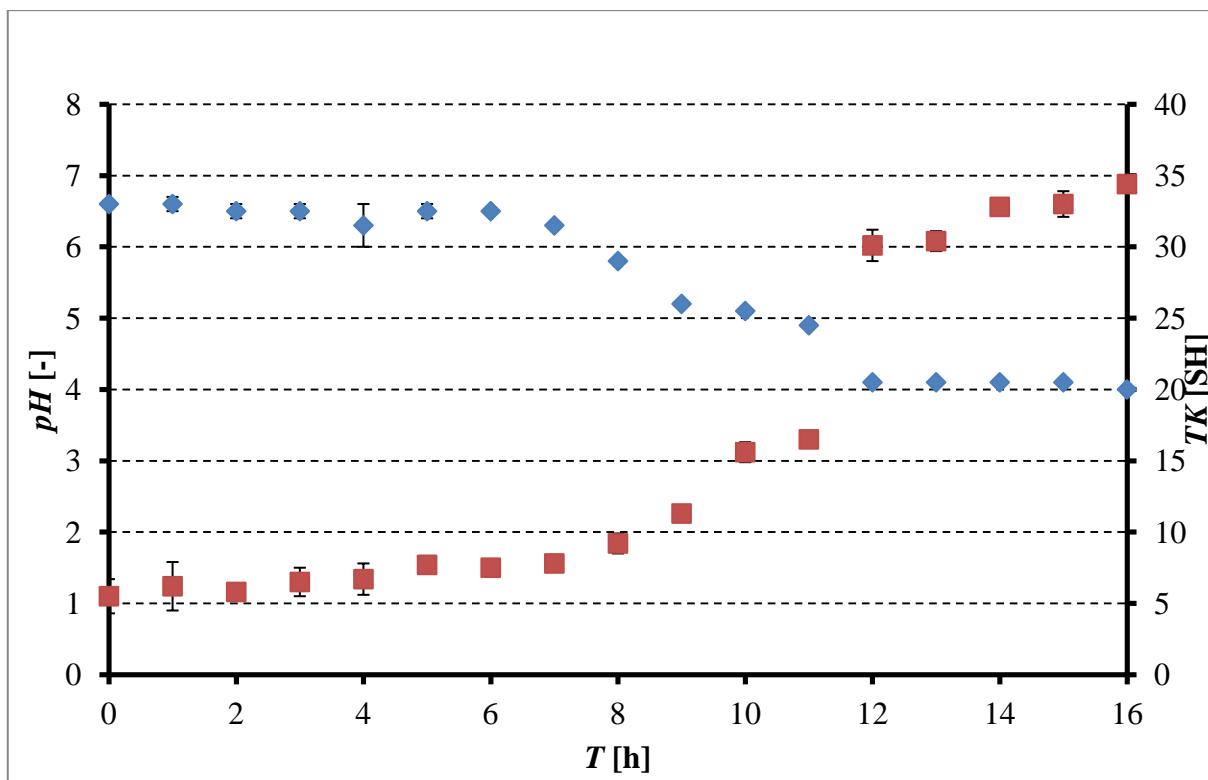


**Obrázek 5: Vliv přídavku jablečné vlákniny na kysací schopnost ABT kultury. ♦ pH [-], ♦ TK [SH].** Výsledky jsou znázorněny jako Ap ze 4 paralelních stanovení ± SD.

Vliv přídavku jablečné vlákniny na kysací schopnost probiotických mlékařských kultur je znázorněn na obrázcích 4 a 5. Bylo pozorováno, že fortifikace tímto substrátem ovlivňuje počáteční kyselost výrobní směsi, jejíž pH kleslo z 6,6 (AS, PS) na 6,1 (AJ, PJ). V porovnání se standardy byl však následný průběh fermentace pozvolnější.

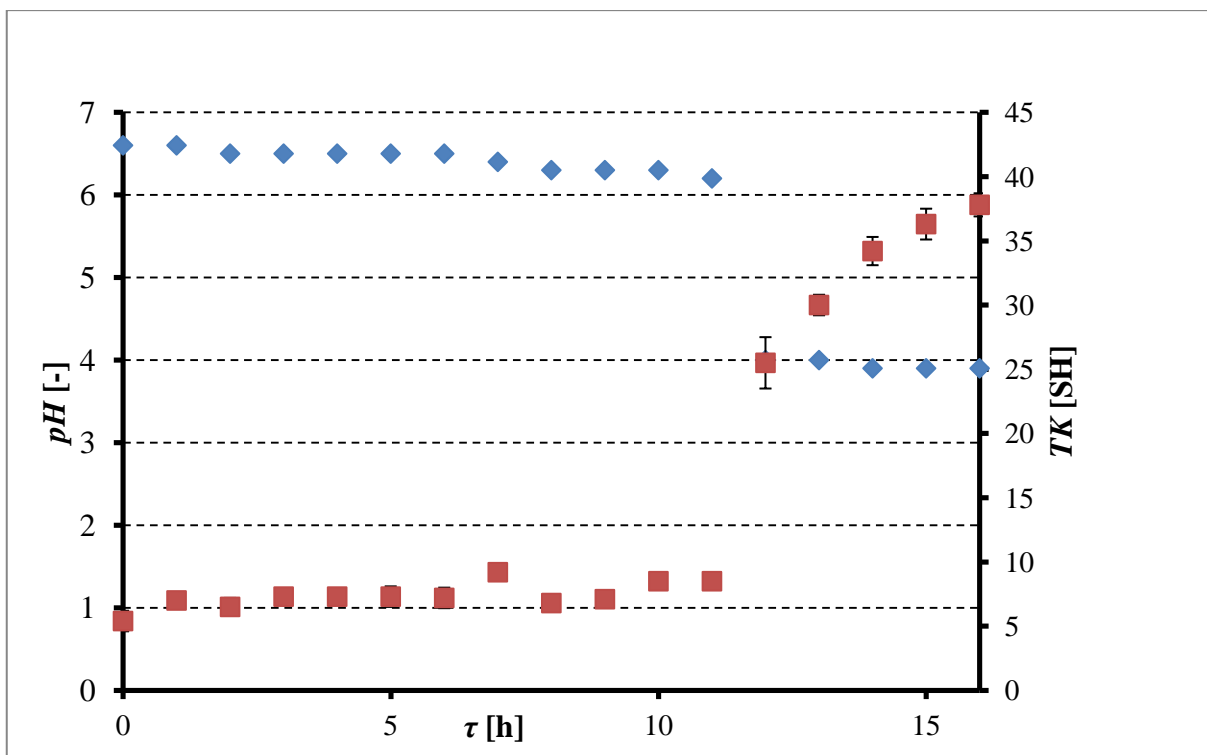


**Obrázek 6: Vliv přidavku psyllia na kysací schopnost acidofilní kultury.** ♦  $pH$  [-], ♦  $TK$  [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako  $\bar{A}_p$  ze 4 paralelních stanovení  $\pm$  SD.

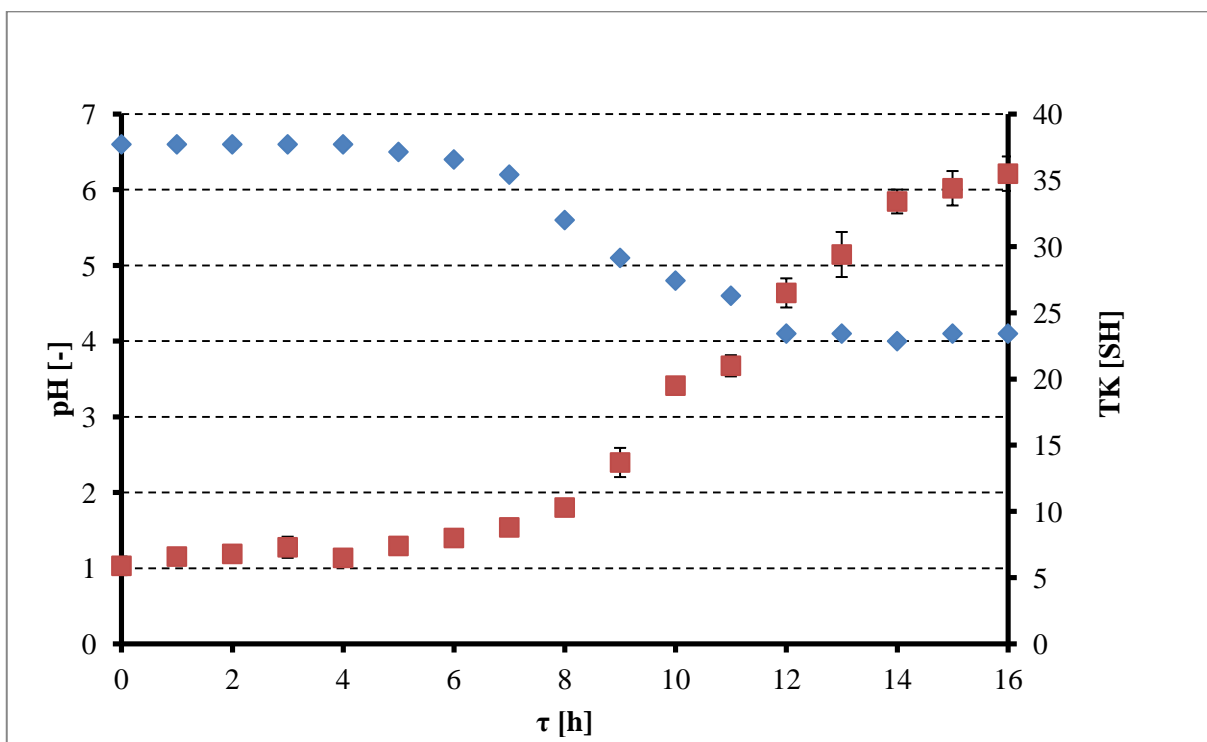


**Obrázek 7: Vliv přídavku psyllia na kysací schopnost ABT kultury.** ♦  $pH$  [-], ♦  $TK$  [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako  $\bar{A}_p$  ze 4 paralelních stanovení  $\pm$  SD.

Vliv přídavku psyllia na kysací schopnost probiotických mlékařských kultur je znázorněn na obrázcích 6 a 7. Bylo pozorováno, že obohacení tímto substrátem neovlivňuje výchozí kyselost výrobní směsi, ale zpomaluje počáteční fázi fermentace u obou typů mlékařských kultur. U acidofilní kultury se aktivní i titrační kyselost prvních 8 h téměř neměnily, načež začalo pH pomalu klesat a titrační kyselost stoupat. Klíčová pak byla 12. h, kdy bylo dosaženo izoelektrického bodu kaseinu. Další průběh kultivace byl srovnatelný se standardem. U probiotické kultury bylo navíc zpomalené dosažení pH 4,6, které nastalo až mezi 11. a 12. h. Následný trend byl opět srovnatelný se standardem

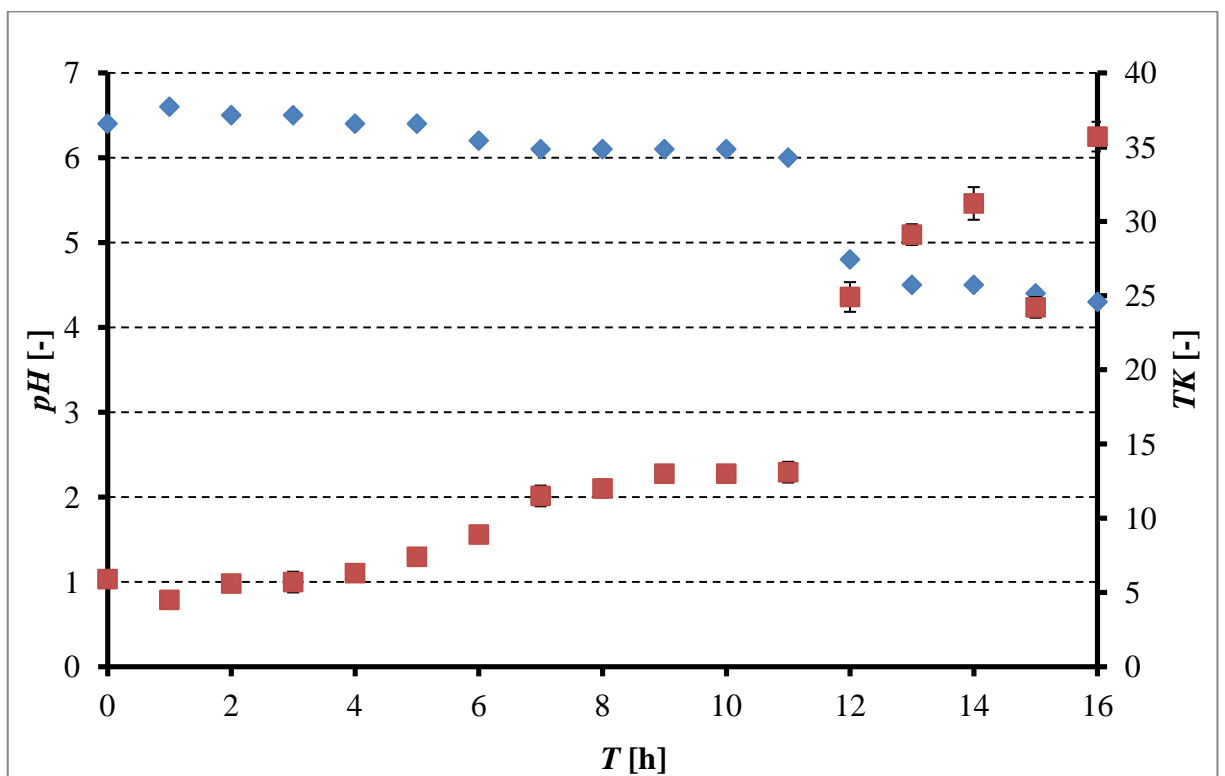


**Obrázek 8: Vliv přidavku žitných otrub na kysací schopnost acidofilní kultury.** ♦ pH [-], ♦ TK [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako Ap ze 4 paralelních stanovení ± SD.

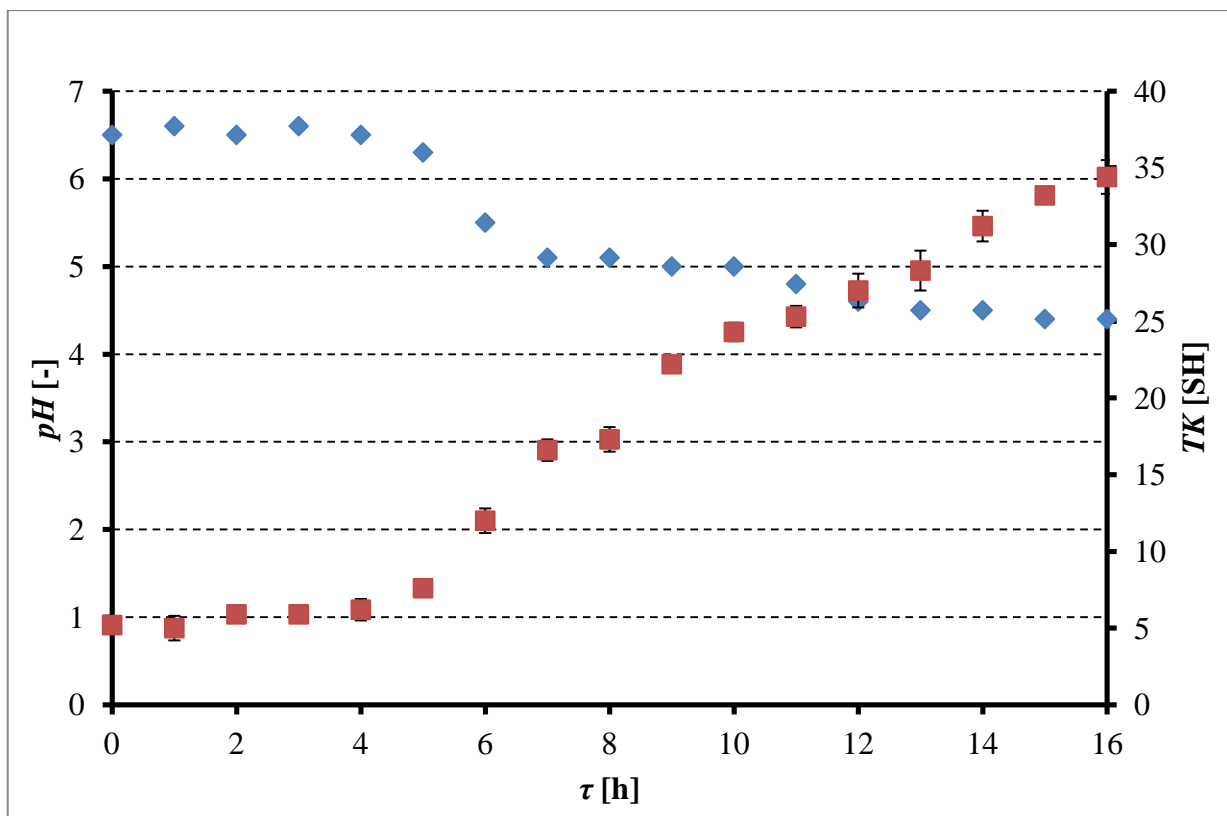


**Obrázek 9: Vliv přidavku žitných otrub na kysací schopnost ABT kultury.** ♦ pH [-], ♦ TK [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako Ap ze 4 paralelních stanovení ± SD.

Na základě výsledků uvedených na obrázcích 8 a 9 lze říci, že přidavek žitných otrub měl na kysací schopnost probiotických mlékařských kultur podobný vliv jako fortifikace psylliem. Tento zdroj vlákniny nepozměnil původní kyselost výrobní směsi. U acidofilního i ABT mléka byla počáteční fáze kultivace zpomalena. Izoelektrického bodu kaseinu bylo dosaženo v případě acidofilní kultury v porovnání se standardem o 1 h dříve (během 12. h po inokulaci), u probiotické kultury pak oproti standardu až o 2 h později (během 11. h po zaočkování). Zbýlý průběh fermentace pak již byl srovnatelný se standardy (trend pozorovaný v případě ABT mléka byl mírně progresivnější).



**Obrázek 10: Vliv přidavku inulinu na kysací schopnost acidofilní kultury.** ♦  $pH$  [-], ♦  $TK$  [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako  $\bar{A}_p$  ze 4 paralelních stanovení  $\pm$  SD



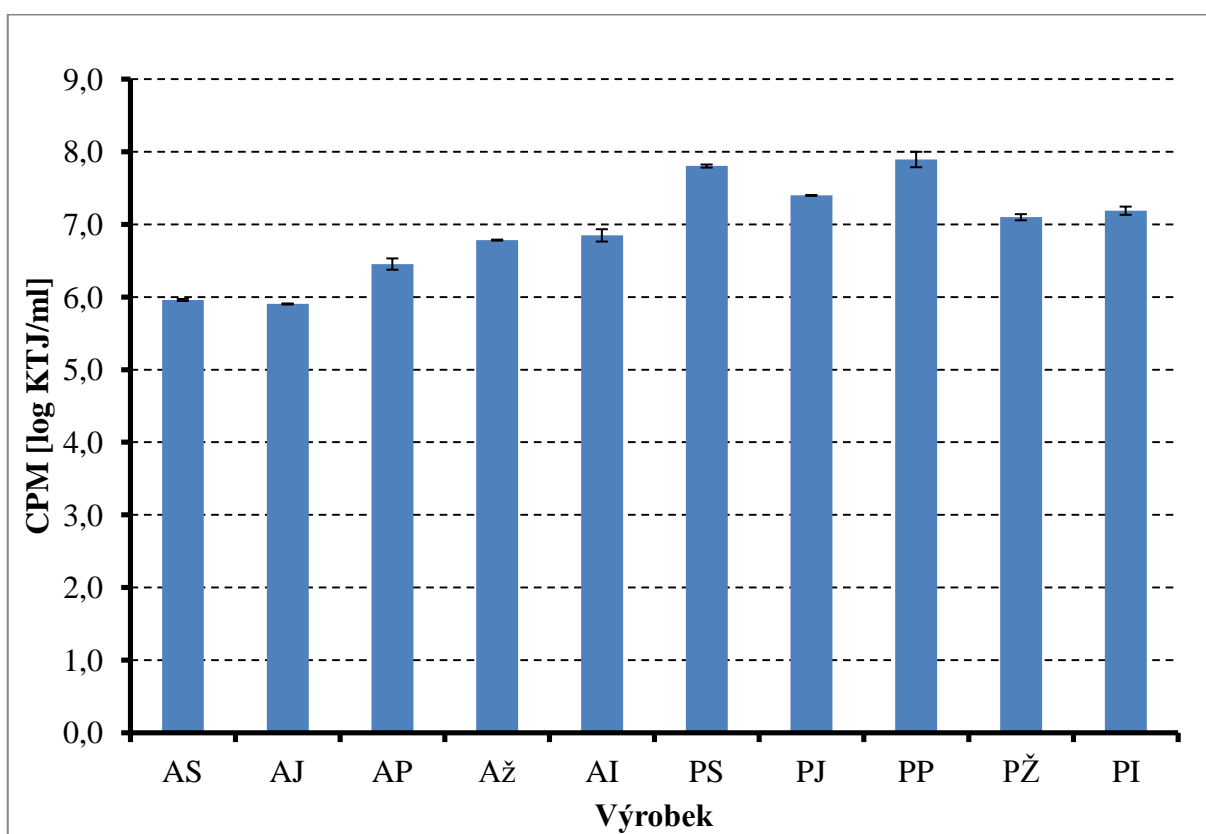
**Obrázek 11: Vliv přidavku inulinu na kysací schopnost ABT kultury.** ♦ pH [-], ♦ TK [SH]. Výsledky jsou znázorněny jako Ap ze 4 paralelních stanovení ± SD.

Vliv přidavku inulinu na kysací schopnost probiotických mlékařských kultur je znázorněn na obrázcích 10 a 11. Z nich vyplývá, že obohacení tímto substrátem mírně zvýšilo kyselost výrobní směsi (AS, PS měly výchozí pH 6,6, AI, PI 6,4 a 6,5). Průběh fermentace fortifikovaného acidofilního mléka byl srovnatelný s acidofilním mlékem standardním, izoelektrického bodu kaseinu bylo dosaženo mezi 12. a 13. h kultivace. Kysací schopnost probiotické kultury byla naproti tomu opět snížena, pH 4,6 bylo dosaženo až na začátku 12. h po inokulaci a konečná aktivní kyselost po 16. h fermentace dosáhla pH 4,4 (PS pH 4,2).



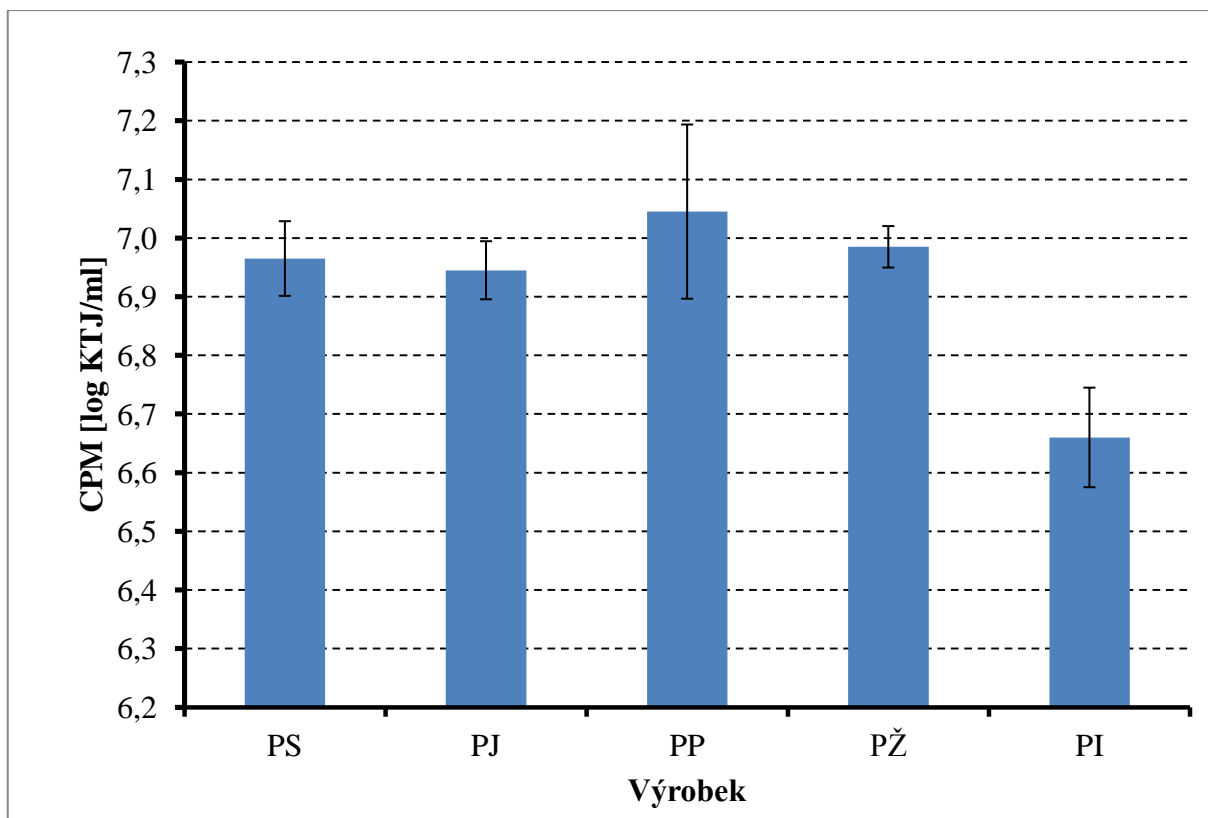
### 5.3. Vliv přídavku vlákniny na růst probiotických mlékařských kultur

Vliv přídavku 1 % hm. vybraných zdrojů vlákniny (jablečná vláknina, psyllium, žitné otruby, inulin) na růst čistých probiotických mlékařských kultur byl charakterizován u polotučného acidofilního a ABT mléka. Růst probiotických bakterií, tedy *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium* sp., byl charakterizován plotnovými metodami dle ČSN ISO 6610 a Vlkové a Rady (2013). Výsledky jsou graficky znázorněny na obrázcích 12 a 13. Statistická analýza je uvedena v .



**Obrázek 12:** Vliv přídavku vlákniny na růst *Lactobacillus acidophilus*. Výsledky jsou uvedeny jako Ap ze 2 paralelních hodnocení  $\pm 0,95\%$  interval spolehlivosti.

Vliv přídavku vlákniny na růst *Lactobacillus acidophilus* je znázorněn na obrázku 12. Je z něj patrný účinek typu zvolené receptury na celkový počet stanovovaných mikroorganismů (CPM). U výrobků fermentovaných acidofilní kulturou byly statisticky významné ( $p > 0,05$ ) nárůsty počtu bakterií *Lactobacillus acidophilus* oproti standardu prokázány při fortifikaci psylliem, žitnými otrubami a inulinem. U vzorků kysaných probiotickou kulturou byly zaznamenány naopak statisticky významné ( $p > 0,05$ ) poklesy počtu bakterií *Lactobacillus acidophilus* oproti standardu u produktů obohacených jablečnou vlákninou, žitnými otrubami a inulinem.



**Obrázek 13: Vliv přídavku vlákniny na růst *Bifidobacterium* spp.** Výsledky jsou uvedeny jako  $A_p$  ze 2 paralelních hodnocení  $\pm 0,95\%$  interval spolehlivosti.

Vliv přídavku vlákniny na růst *Bifidobacterium* sp. je uveden na obrázku 13. Je z něj patrné, že při aplikaci psyllia a žitných otrub došlo k navýšení počtu bakterií *Bifidobacterium* sp. Fortifikace jablečnou vlákninou a inulinem naopak působila inhibičně. Statisticky významný rozdíl ( $p > 0,05$ ) byl však nalezen pouze v případě porovnání vzorků PS a PI.

#### 5.4. Vliv přidavku vlákniny na intenzitu odlučování syrovátky u probiotických fermentovaných mléčných výrobků

Vliv přidavku 1 % hm. vybraných zdrojů vlákniny (jablečná vláknina, psyllium, žitné otruby, inulin) na množství odloučené syrovátky v průběhu skladování probiotických FMV byl charakterizován u polotučného acidofilního a ABT mléka měřením objemu odloučené syrovátky po dobu 28 dnů (tedy po dobu předpokládané trvanlivosti FMV v délce 1 měsíce) s frekvencí odečtů den po přípravě a následně po 7 dnech skladování při chladírenských teplotách (5 °C). Fotografická dokumentace vzhledu vzorků v průběhu skladovacího pokusu je uvedena v příloze 2. Vzhledem k absenci odloučené syrovátky při zahájení skladování nebyly tyto fotografie zařazeny. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 6. Protože rozdíly v intenzitě odlučování syrovátky nebyly statisticky významné ( $p < 0,05$ ), není zde statistická analýza uvedena.

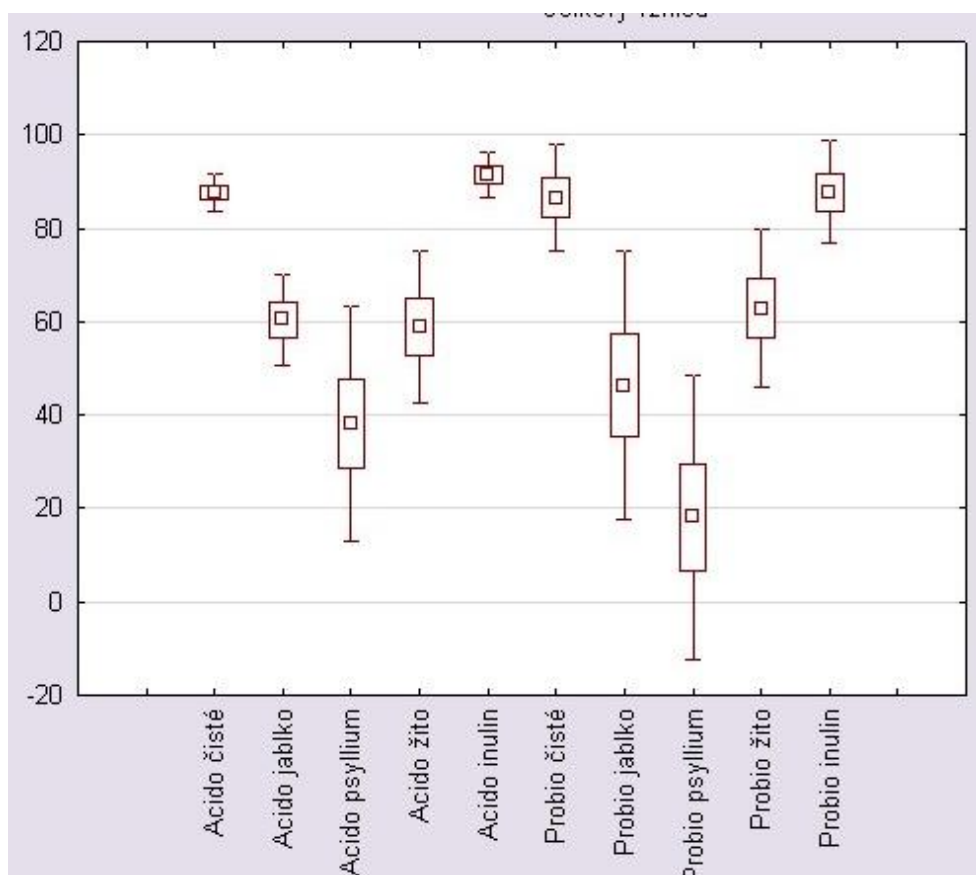
**Tabulka 6:** Vliv přidavku vlákniny na množství odloučené syrovátky během skladování probiotických FMV. Výsledky jsou uvedeny ve formě  $A_p$  ze 2 paralelních stanovení s SD.

Vzorek	1. den [ml]		7. den [ml]		14. den [ml]		21. den [ml]		28. den [ml]	
	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD	$A_p$	SD
AS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
AJ	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
AP	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
AŽ	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
AI	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PJ	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PP	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PŽ	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
PI	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0

Na základě výsledků měření vlivu aplikace vlákniny na množství odloučené syrovátky v průběhu skladování probiotických FMV po dobu 1, 7, 14, 21 a 28 dní lze říci, že přidavek jablečné vlákniny zvýšil množství odloučené syrovátky u acidofilního mléka. Obohacení receptury o žitné otruby podpořilo odlučování syrovátky u obou typů analyzovaných probiotických FMV. Množství odloučené syrovátky také vzrostlo u ABT mléka po aplikaci inulinu. Z fotografií uvedených v příloze 2 je navíc patrné, že všechny užití zdroje vlákniny nezůstávají po fermentaci homogenně rozptýleny ve struktuře výrobku, ale mají naopak tendenci vytvářet sedimenty a vyvstálé horní vrstvy.

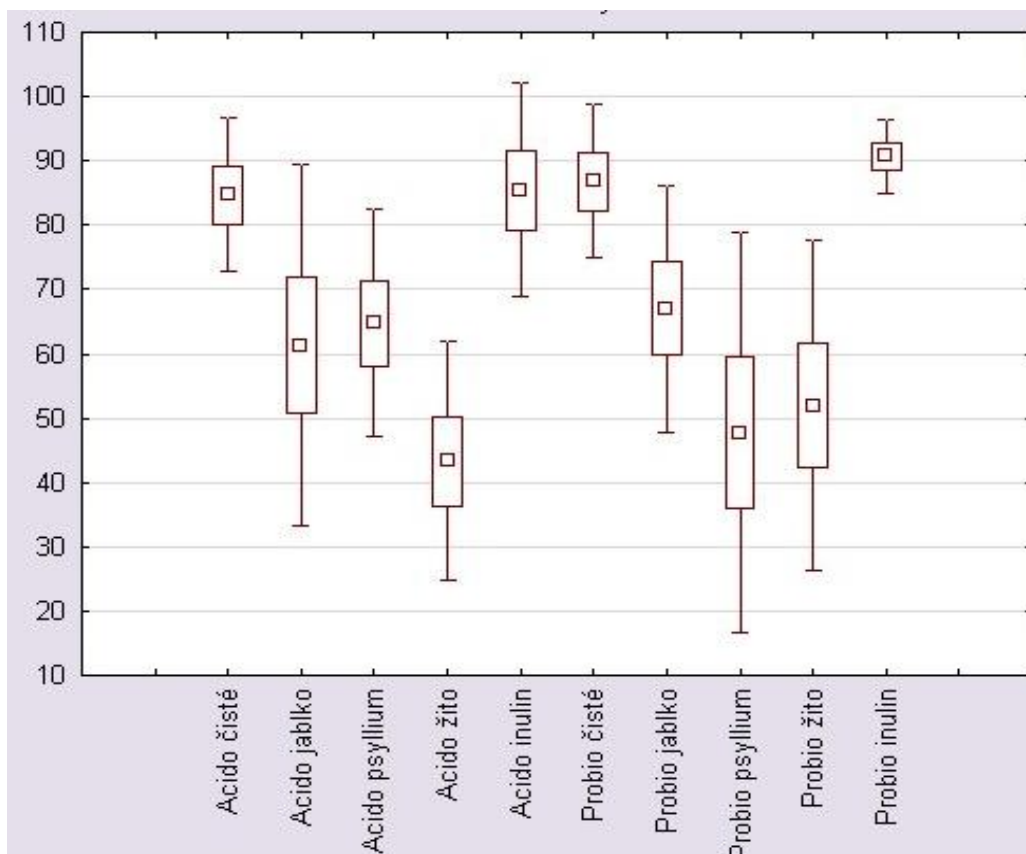
#### 4.5. Vliv přidavku vlákniny na sensorické vlastnosti probiotických fermentovaných mléčných výrobků

Vliv přidavku 1 % hm. vybraných zdrojů vlákniny (jablečná vláknina, psyllium, žitné otruby, inulin) na sensorické vlastnosti probiotických FMV byl charakterizován u polotučného acidofilního a ABT mléka metodou pořadového testu s grafickou hedonickou nedělenou stupnicí. Hodnocenými aspekty byly celkový vzhled, příjemnost vůně, příjemnost konzistence, celková příjemnost chuti, intenzita cizí chuti, intenzita kyselé chuti a celková přijatelnost (příjemnost) výrobku. Formulář pro sensorickou analýzu je uveden v příloze 1. Výsledky jsou graficky znázorněny na obrázcích 14 až 21.



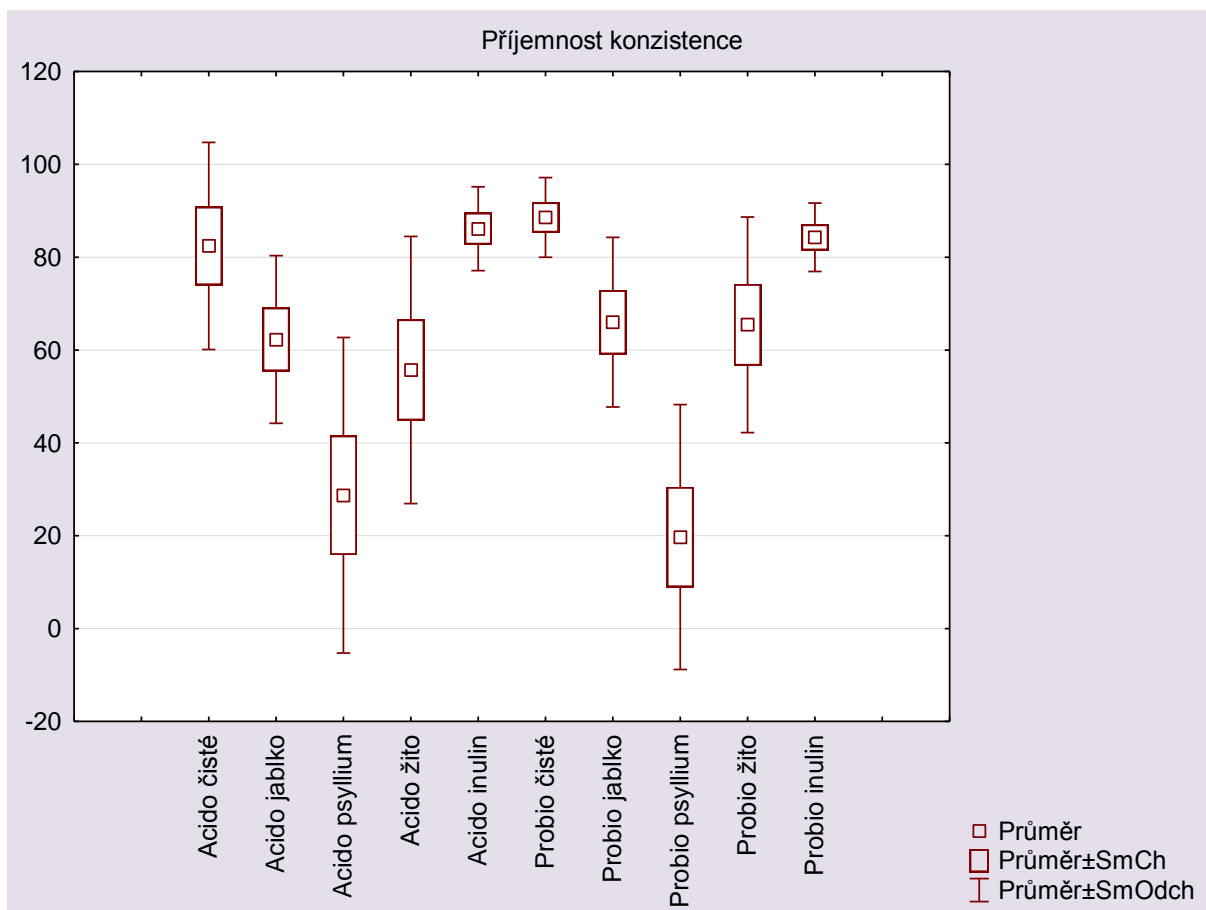
**Obrázek 14: Vliv přidavku vlákniny na celkový vzhled probiotických FMV.** Výsledky jsou uvedeny jako Ap ze 7 paralelních hodnocení  $\pm$  SD.

Ve vnímání celkového vzhledu výrobků hodnotiteli byly prokázány tyto statisticky významné rozdíly ( $p > 0,05$ ) v závislosti na typu vzorku. Nejhůře byly hodnoceny produkty s přidavkem psyllia, zejména vzorek PS, především pro svůj typický slizovitý vzhled. Dále nebyl celkový vzhled příliš pozitivně přijímán ani u jablečné vlákniny, kde respondentům vadily viditelné hnědé nerozpuštěné kousky, stejně jako při přidavku žitných otrub. Nejlépe byly hodnoceny výrobky fortifikované inulinem, protože se jejich vzhled téměř nelišil od standardních produktů. Vzorek AI byl dokonce přijímán lépe, než AS.



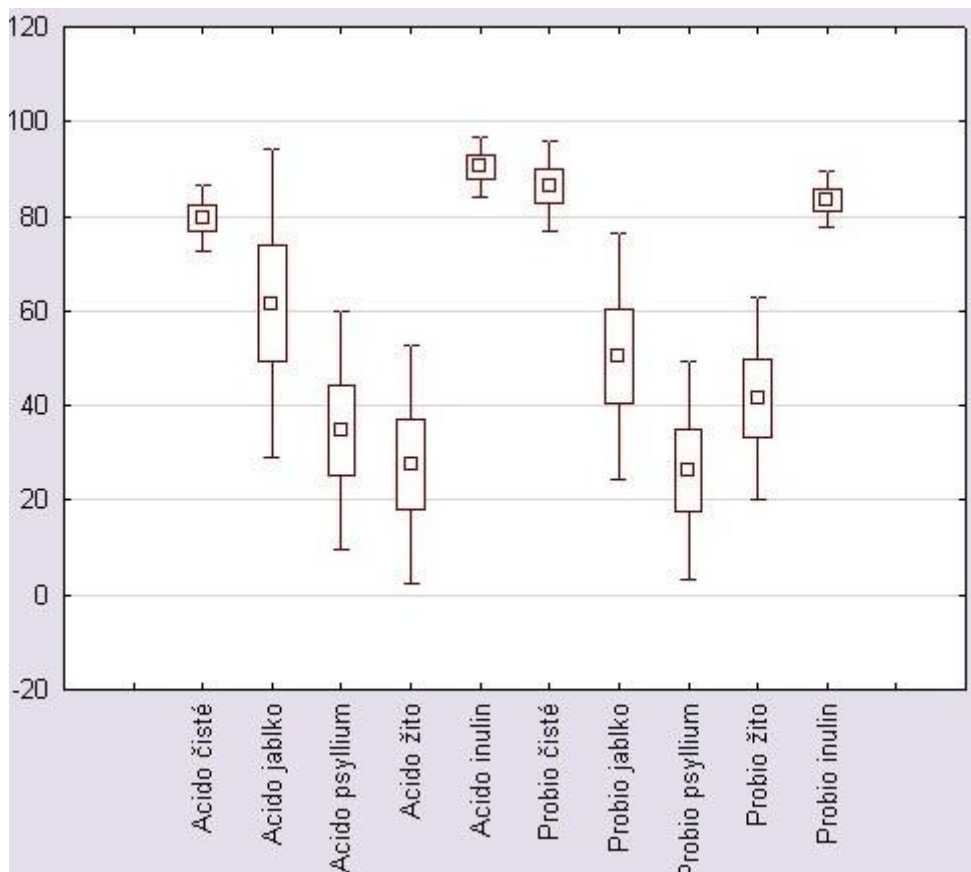
**Obrázek 15: Vliv přidavku vlákniny na příjemnost vůně probiotických FMV.** Výsledky jsou uvedeny jako Ap ze 7 paralelních hodnocení  $\pm$  SD.

Také v příjemnosti vůně byly prokázány tyto statisticky významné rozdíly ( $p > 0,05$ ) v závislosti na typu hodnoceného vzorku. Nejhůře byly hodnoceny vzorky s přidavkem psyllia a žitných otrub. U přidavku psyllia byly negativní výsledky pravděpodobně zapříčiněny jeho typickou vůně přirovnávanou k žampionové a u výrobků obohacených o žitné otruby byla vůně často charakterizována jako nepříjemná či ostrá. Rovněž přídavek jablečné vlákniny byl některými hodnotiteli negativně vnímán a definován jako příliš nasládlá vůně. Zajímavé je, že vady vůně byly většinou zaznamenány v sadě produktů, jež byly zaočkovány acidofilní kulturou, kde byla i vůně standardu charakterizována jako „nepříjemně nakyslá“. Velmi dobře byly opět přijaty výrobky s přidavkem inulinu, které dosahovaly stejného a v některých případech i lehce vyššího hodnocení než standardy neobsahující vlákninu.



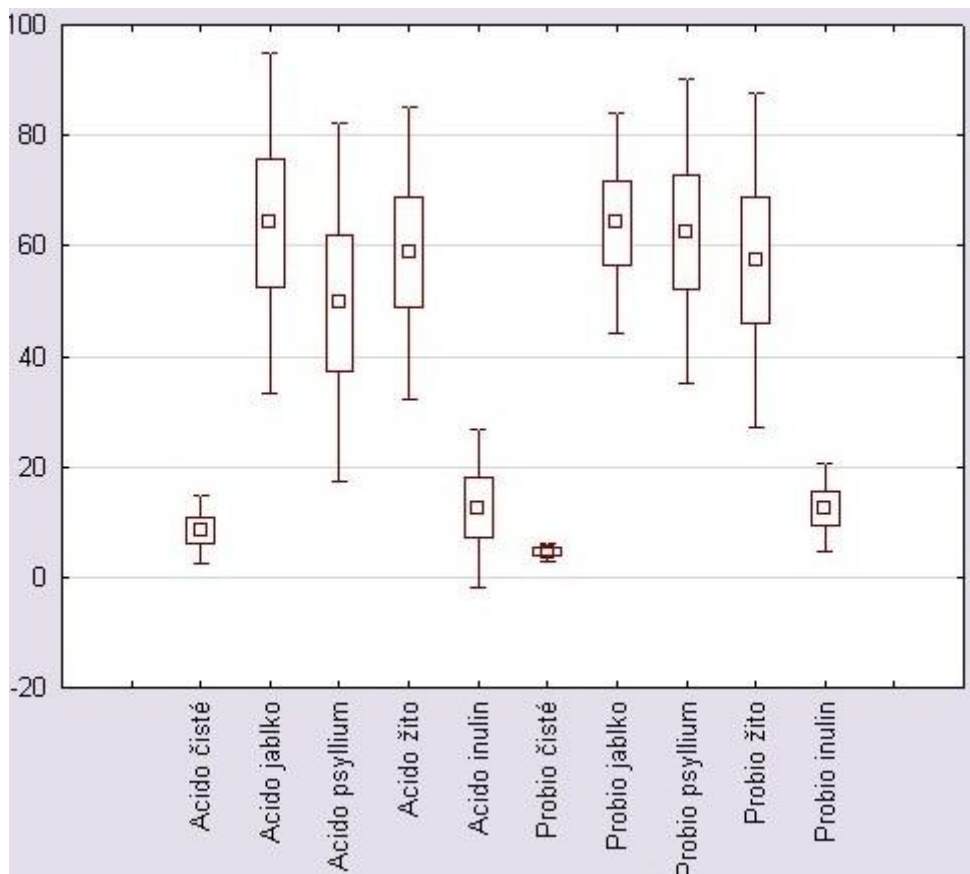
**Obrázek 16: Vliv přídavku vlákniny na příjemnost konzistence probiotických FMV.** Výsledky jsou uvedeny jako  $\bar{A}_p$  ze 7 paralelních hodnocení  $\pm$  SD.

V příjemnosti konzistence byly též prokázány tyto statisticky významné rozdíly ( $p > 0,05$ ) v hodnocení jednotlivých výrobků. Nejhůře byly tradičně vnímány vzorky s přídavkem psyllia, kde hodnotitelům vadily viditelné nehomogenní částice. Výrazněji byl tento deskriptor kritizován u produktů zaočkovaných probiotickou kulturou, které měly v porovnání s acidofilními výrobky vyšší viskozitu. Nejlepších výsledků opět dosáhly standardy a produkty obohacené inulinem. Podobně hodnoceny pak byly i vzorky fortifikované jablečnou vlákninou a žitnými otrubami, u nichž nebyly definovány žádné vady konzistence.



**Obrázek 17: Vliv přidavku vlákniny na celkovou příjemnost chuti probiotických FMV.** Výsledky jsou uvedeny jako Ap ze 7 paralelních hodnocení  $\pm$  SD.

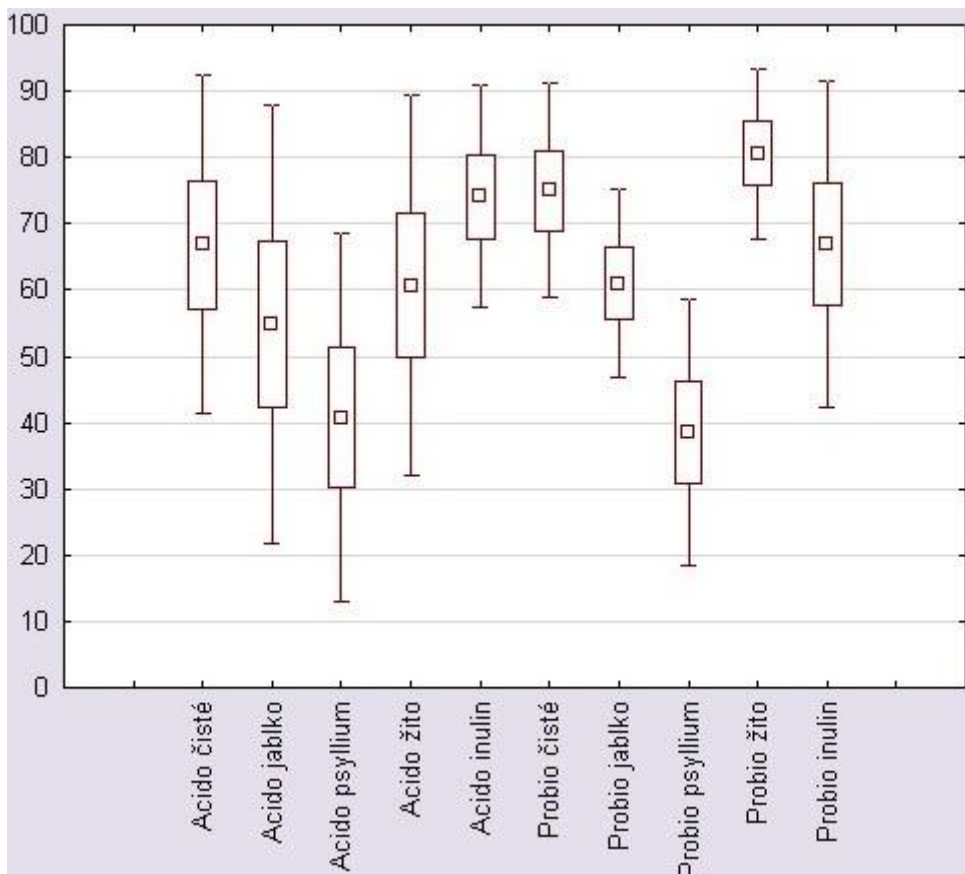
I tento parametr byl vnímán u jednotlivých výrobků statisticky významně rozdílně ( $p > 0,05$ ). Nejhorší byla celková příjemnost chuti hodnocena u produktů obohacených psylliem a žitnými otrubami. Chuť vzorků AP a SP byla některými hodnotiteli označena jako „nechutná“ a u žitných otrub vadila pravděpodobně jejich silná typická chuť, již byli respondenti schopni identifikovat, ačkoli nevěděli, jaký druh vlákniny byl do výrobku přidán. Nejrozporuplněji pak byla přijata fortifikace jablečnou vlákninou. Zatímco některými účastníky senzorycké analýzy byly tyto produkty hodnoceny velmi příznivě, jinými naopak negativně. Nejlépe opět vyhověly standardy a probiotické FMV s přidavkem inulinu.



**Obrázek 18: Vliv přídavku vlákniny na intenzitu cizí chuti probiotických FMV.** Výsledky jsou uvedeny jako  $A_p$  ze 7 paralelních hodnocení  $\pm$  SD.

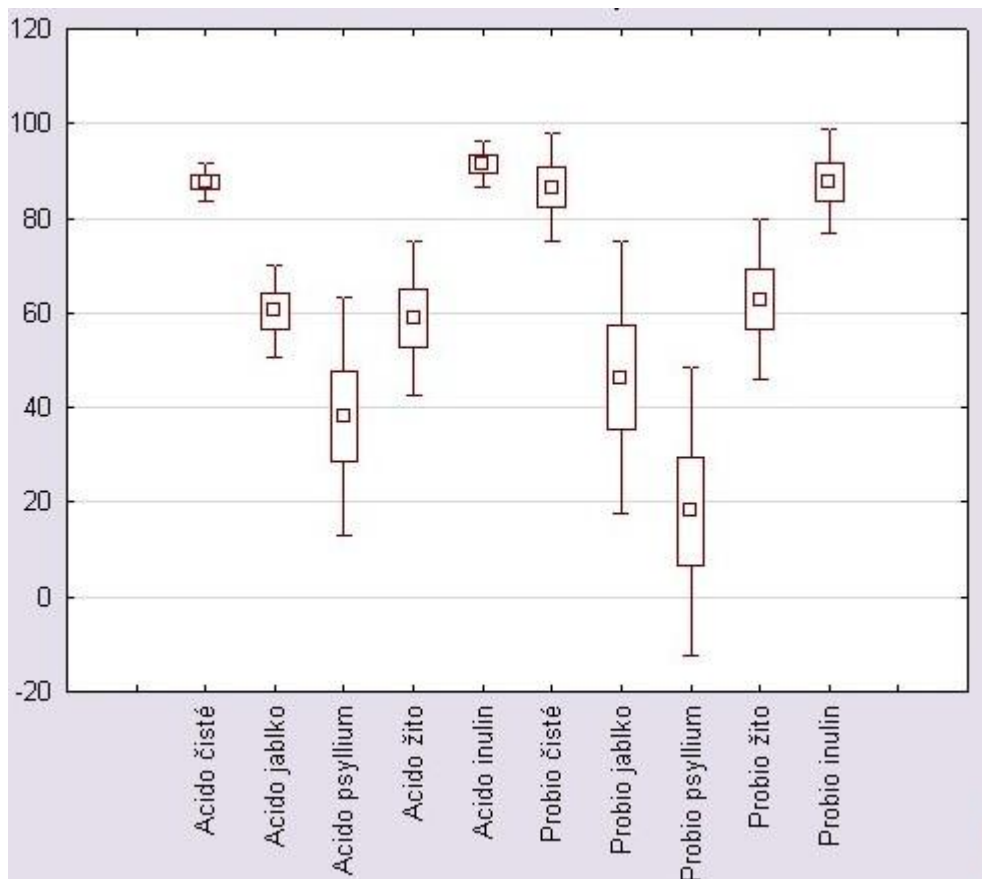
V intenzitě cizí chuti byly prokázány opět statisticky významné rozdíly ( $p > 0,05$ ) dle použité receptury. Vzorky AS, PS, AI a PI nevykázaly statisticky významný ( $p < 0,05$ ) výskyt cizí chuti. U ostatních obohacených výrobků byla cizí chuť rozpoznána zřetelně.





**19: Vliv přidavku vlákniny na intenzitu kyselé chuti probiotických FMV.** Výsledky jsou uvedeny jako Ap ze 7 paralelních hodnocení  $\pm$  SD.

Intenzita kyselé chuti byl jediný deskriptor, u kterého nebyly prokázány statisticky významné rozdíly ( $p > 0,05$ ) v hodnocení výrobků v závislosti na změně receptury. Jako nejméně kyselé byly hodnoceny produkty s přidavkem psyllia, nejvíce kyselé byly naopak vzorky PŽ.



**Obrázek 20: Vliv přídavku vlákniny na celkové hodnocení probiotických FMV.** Výsledky jsou uvedeny jako  $A_p$  ze 7 paralelních hodnocení  $\pm$  SD

Na základě výsledků znázorněných na obrázku 20 lze říci, že v celkové přijatelnosti (příjemnosti) vzorků byly opět prokázány statisticky významné rozdíly ( $p > 0,05$ ). Jako velmi příjemné byly hodnoceny výrobky bez přídavku vlákniny a rovněž produkty fortifikované inulinem, které byly v případě vzorků AI přijímány dokonce lépe než AS. U vzorků obohacených jablečnou vlákninou se respondenti vzájemně neshodli. Zatímco někteří je charakterizovali jako velmi příjemné, ostatní jako odporné nebo neutrální. Nejhorší byly ohodnoceny výrobky s přídavkem psyllia a žitných otrub, kdy zcela nejhorší výsledky byly zaznamenány u vzorků PP a AŽ.

## 6. DISKUZE

Fortifikace probiotických FMV 1 % hm. 4 různých zdrojů vlákniny (jablečná vláknina, psyllium, žitné otruby, inulin) a její vliv na obsah sušiny, kysací schopnost a růst čistých probiotických mlékařských kultur, množství odloučené syrovátky a sensorické vlastnosti byl charakterizován u polotučného acidofilního a ABT mléka. Bylo zjištěno, že všechny FMV s přídavkem vlákniny mají vyšší obsah sušiny než standardy tento suplement neobsahující. Statisticky významný ( $p > 0,05$ ) byl tento nárůst v případě acidofilního mléka s přídavkem psyllia a ABT mléka obsahujícího jablečnou vlákninu, psyllium a inulin. Získané výsledky mohou být vysvětleny rozdílným charakterem použitých zdrojů substrátů, jejichž příspěvek k celkové sušině výrobků může být ovlivněn nehomogenním rozvrstvením vlhkosti v balení (Foschia et al., 2015; McKee et Latner, 2000; Oliveira et al., 2009).

Při hodnocení vlivu přídavku vlákniny na kysací schopnost použitých probiotických mlékařských kultur bylo zjištěno, že jablečná vláknina a inulin měly schopnost zvýšit výchozí kyselost výrobní směsi. Stejně výsledky byly zaznamenány i Esprítito-Santem a kol. (2012), kteří pracovali s více druhy vláknin ovocného původu, konkrétně jablečnou, banánovou a marakujovou (Esprítito-Santo et al., 2012). Při sledování průběhu fermentace jednotlivých vzorků bylo pozorováno, že pH acidofilního mléka dosáhlo izoelektrického bodu kaseinu zhruba o 2 h dříve (mezi 11. a 12. h kultivace), byl-li tento produkt fortifikován psylliem a žitnými otrubami, a o 1 h dříve (mezi 12. a 13. h fermentace) v případě použití inulinu oproti matici standardní, kde pH kleslo k hodnotám 4,6 mezi 13. a 14. h. Pozitivní vliv přídavku obilných zdrojů vláknin, konkrétně ovesných otrub a pohanky, a inulinu na pokles pH během fermentace mléka bakteriemi *Lactobacillus paracasei* a *Lactobacillus rhamnosus* popsali ve své práci i Comana a kol. (2013) a Raju a Pala (2014). Přítomnost jablečné vlákniny naopak kysání zpomalila a izoelektrického bodu kaseinu bylo dosaženo až mezi 15. a 16. h kultivace. To je v rozporu se závěry studie Esprítito-Santa a kol. (2012) a lze je vysvětlit odlišným typem použitých probiotik. U probiotické kultury byl naopak zaznamenán negativní vliv všech typů vlákniny na její kysací schopnost, neboť pH standardní matrice kleslo k hodnotám 4,6 mezi 8. a 9. h fermentace, kdežto u ostatních vzorků až mezi 10. a 11. h (jablečná vláknina a žitné otruby), 11. a 12. h (psyllium) a 12. a 13. h (inulin). I tyto výsledky poukazují na skutečnost, že zdroj vlákniny, respektive její složení, může mít odlišné účinky dle typu zkoumaných mikroorganismů (Coman et al., 2013; Esprítito-Santo et al., 2012; Raju et Pal, 2014). Pro charakterizaci vlivu typu zdroje vlákniny na růst probiotických bakterií, tedy *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium* sp. byla použita metoda stanovení

počtu těchto mikroorganismů na specifických půdách (ČSN ISO 6610; Vlková et Rada, 2013). Byl prokázán statisticky významný ( $p > 0,05$ ) nárůst počtu bakterií *Lactobacillus acidophilus* u vzorků acidofilního mléka obohaceného psylliem, žitnými otrubami a inulinem. Získané výsledky jsou v souladu se stanovením kysací schopnosti kultur, avšak mezi rychlostí dosažení izoelektrického bodu kaseinu a počtem mikroorganismů nebyla zaznamenána přímá úměra. Inulin stimuloval růst acidofilní kultury nejvíce, což potvrzuje jeho prokázané prebiotické účinky (Oliveira et al., 2009; Raju et Pal, 2014). Pozitivní vliv ovocných a obilných zdrojů vlákniny na růst a životaschopnost probiotických bakterií byl zaznamenán i dalšími autory (Coman et al., 2013; Esprítito-Santo et al., 2012). V případě probiotické kultury byl naopak pozorován negativní nebo žádný účinek přídavku vlákniny na množství probiotik. Statisticky významné ( $p > 0,05$ ) byly poklesy počtu bakterií *Lactobacillus acidophilus* při fortifikaci mléka jablečnou vlákninou, žitnými otrubami a inulinem a *Bifidobacterium* sp. při obohacení mléka inulinem. Tyto výsledky jsou sice protichůdné oproti závěrům ostatních studií (Coman et al., 2013; Esprítito-Santo et al., 2012; Oliveira et al., 2009; Raju et Pal, 2014), jsou však v souladu se stanovením kysací schopnosti probiotické kultury. Mohou být opět způsobeny typem použitého startéru, který tvořila mikroflóra *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* a *Bifidobacterium* sp. (Bylund, 1995; Fox et McSweeney, 1998; Tamine et Marshall, 1997).

Množství odloučené syrovátky v průběhu skladování produktů bylo sledováno po dobu 28 dnů. Během tohoto pokusu nebyly zjištěny výrazné rozdíly mezi vzorky a maximální zaznamenané množství odloučené syrovátky bylo 0,5 ml (acidofilní mléko fortifikované jablečnou vlákninou a žitnými otrubami a ABT mléko obohacené žitnými otrubami a inulinem). Pozitivní vliv přídavku vlákniny na množství odloučené syrovátky zaznamenaný ve studii Raju a Pala (2014) může být způsoben odlišnou tučností jejich analytů (Raju et Pal, 2014).

Senzorická analýza vzorků prokázala statisticky významný vliv ( $p > 0,05$ ) typu zdroje vlákniny na organoleptické vlastnosti připravených probiotických FMV. Bylo zjištěno, že nejhůře byly respondenty přijímány produkty s přídavkem psyllia a žitných otrub. V případě jablečné vlákniny byly výsledky často nekonzistentní, neboť se hodnotitelé rozdělili na 2 skupiny, z nichž jedna tyto výrobky hodnotila vyloženě kladně a druhá neutrálně až negativně. Nejlépe byly respondenty vedle standardních FMV vnímány FMV fortifikované inulinem, jež byly v některých charakteristikách i preferovány (například ve vzhledu, vůni, příjemnosti chuti a celkové přijatelnosti acidofilního mléka). Výsledky sensorických analýz jsou v rámci jednotlivých studií dosti odlišné, neboť autoři používají různé druhy vlákniny

a výrazný vliv má i regionální specifika chutí. Obecně lze ale říci, že spotřebitelé dávají přednost fortifikaci zdroji vlákniny, které jsou organolepticky inertní a nepozmění tak vzhled, homogenost konzistence, vůni a chuť finálních výrobků (Coman et al., 2013; Esprítito-Santo et al., 2012; Raju et Pal, 2014).

## 7. ZÁVĚR

Cílem diplomové práce byla příprava modelových probiotických FMV (acidofilního a ABT mléka) s obsahem 1 % hm. 4 různých zdrojů vlákniny (jablečná vláknina, psyllium, žitné otruby, inulin). Dále byl charakterizován účinek fortifikace těmito substráty na obsah sušiny, fermentabilitu, počet probiotických mikroorganismů, množství odloučené syrovátky a senzorický profil těchto výrobků. Hypotézou bylo, že použitá vláknina ovlivní technologickou a senzorickou kvalitu acidofilního a ABT mléka. Bylo zjištěno, že obohacení matrice acidofilního mléka psylliem a ABT mléka jablečnou vlákninou, psylliem a inulinen statisticky významně ( $p > 0,05$ ) zvýšilo obsah sušiny. Mimo jablečné vlákniny prokázaly analyzované substráty také pozitivní účinek na fermentabilitu mléka acidofilní kulturou a na počty obsažených bakterií *Lactobacillus acidophilus* ( $p > 0,05$ ). Probiotická kultura byla naopak přidavkem zdroje vlákniny inhibována, což se projevilo na nižších celkových počtech probiotických mikroorganismů (*Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium* sp.) i horší kysací schopnosti ABT mléka. Při fortifikaci probiotických FMV je tedy potřeba vhodně zvolit kombinaci probiotik a zdroje vlákniny.

Rozdíly mezi množstvím odloučené syrovátky nebyly významné, neboť standard sám o sobě prokázal dobrou vaznost vody. Typ vlákniny také ovlivnil organoleptické vlastnosti produktů. Nejhůře byl přijímán přídavek psyllia, nejlépe pak inulinu. Dle výsledků senzorické analýzy byl tedy jako vhodný typ vlákniny označen inulin, který je senzoricky inertní a neměl negativní dopad na vzhled, vůni a chuť výrobků.

Závěrem lze říci, že hypotéza byla potvrzena. Míra a kvalita vlivu použité vlákniny však záleží na jejím zdroji, respektive složení, a na druhu probiotických mikroorganismů. Navazující práce by bylo zajímavé zaměřit mimo jiné na analýzu změny počtu probiotik v průběhu skladování FMV a na porovnání profilů jejich mastných kyselin.

## 8. POUŽITÁ LITERATURA

Butel, M. J. 2014. Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 44 (1). 1-8

Bylund, G., 1995, Dairy processing handbook, Tetra Pack Processing System, pg. 435

Carson, K.J., Collins, J.L., Penfield, M.P., 1994, Unrefined, dried apple pomace as a potential food ingredient, *J Food Sci*. 53, 1213-1215

Chen, H., Rubenthaler, G. L., Leung, H., Baranowski, J.D., 1988, Chemical, physical and baking properties of apple fiber compared with beat and oat bran, *Cereal Chem*, 65, 244-247

Coman, M. M., Verdenelli, M. C., Cecchini, C., Silvi, S., Vasile, A., Bahrim, G. E., Orpianesi, C., Cresci, A. 2013. Effect of buckwheat flour and oat bran on growth and cell viability of the probiotic strains *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501, *Lactobacillus paracasei* IMC 502 and their combination SYN BIO, in synbiotic fermented milk. *International Journal of Food Microbiology*. 167 (2). 261-268.

ČSN ISO 6610, 1996, Mléko a mléčné výrobky, stanovení počtu jednotek mikroorganismů tvořící kolonie. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 0C, Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví

ČSN EN ISO 712 (461014), 2010, Obiloviny a výrobky z obilovin-Stanovení vlhkosti-Referenční metoda, Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví

ČSN ISO 6658, 2009, Senzorická analýza- metodologie-všeobecné pokyny, Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví

ČSN ISO 6731, 1998, Mléko, smetana a zahuštěné neslazené mléko-stanovení obsahu celkové sušiny (referenční metoda), Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví

ČSN ISO 8587, 1993, Senzorická analýza-methodologie-pořadová zkouška, Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví

ČSN 57 0536, 1999, Stanovení složení mléka infračerveným absorpčním analyzátozem, Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví

DeVrese, M., Schrezenmeir, J., 2008, Probiotics, Prebiotics and Symbiotics, *Advances in Biotechnical Engineering/Biotechnology*. 11, 1-11

Dong, Z., Ruo-Yao, D., Zheng, L., Zhang, X., Chong-Weng, Y., 2014, Thermal properties of flax fiber scoured by different methods, *Thermal Science*. 00, 1-5

Ebringer, L., Ferenčík, M., Krajčovič, J., 2008, Beneficial Health Effects of Milk and Fermented Dairy Products, *Folia Microbiologica*. 53, 378-394

- Edwards, C. A., Parrett, A. M., 2002, Intestinal flora during the first months of life: new perspectives, *British Journal of Nutrition* 88, 11-18
- Espírito-Santo, A. P., Cartolano, N. S., Silva, T. F., Soares, F. A. S. M., Gioielli, L. A., Perego, P., Converti, A., Oliveira, M. N. 2012. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. *International Journal of Food Microbiology*. 154 (3). 135-144.
- Espírito-Santo, A. P., Lagazzo, A., Sousa, A. L. O. P., Perego, P., Converti, A., Oliveira, M. N. 2013. Rheology, spontaneous whey separation, microstructure and sensorial characteristics of probiotic yoghurts enriched with passion fruit fiber. *Food Research International*. 50 (1). 224-231.
- Eswaran, S., Muir, J., Chey, W. D. 2013. Fiber and functional gastrointestinal disorders. *American Journal of Gastroenterology*. 108 (5). 718-727
- Fernandes, C. F., Chandan, R.C., Shahami, K.M., 1992, Fermented Dairy products and health, *The Lactic Acid Bacteria* 1, 297- 339
- Fernández-García, E., McGregor, J. U., 1997, Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber, *Zeitschrift fur lebensmitteluntersuchung und Forschung-A*, 433-437
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., 1998, Dairy chemistry and biochemistry, Blackie Academic and Professional, ISBN 0 412 72000 0
- Foschia, M., Peressini, D., Sensidoni, A., Brennan, M. A., Brennan, C. S., 2015, Synergistic effect of different dietary fibres in pasta on in vitro starch digestion, *Food Chemistry* vol. 172, pgs. 245-250
- Gleeson, M., Jeukendrup, A., 2010, Sport Nutrition, Human Kinetics, ISBN: 0 7360 7962 9, 475 p
- Howarth, N. C., Saltzman, E., Roberts, S. B., 2001, Dietary fiber and weight regulation. *Nutr. Rev*, 59, 129–139
- Jacobs, L. R., 1989, Dietary Fiber, fiber containing food and colon cancer risk, *Colorectal cancer*, 139-159
- Klosterbeur, A. S., 2012, Fiber Intake Alters Gut Hormone Levels in Humans Following Acute or Chronic Intake, *Journal of Food Research*, 1 (2), 255-273
- Kouřimská, L., 2007, Úvod do mlékařství. Laboratorní cvičení, Česká zemědělská univerzita v Praze, ISBN: 978-80-213-1665-2, p 100
- Kris-Etherton P. M., Etherton T. D., Carlson J., Gardner C., 2002, Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease, *Curr. Opin.Lipidol* 13, pgs, 397-407
- Larauri, J. A., Borroto, B., Crespo, A. R., 1997, Water recycling in processing orange peel to a high dietary fiber powder, *Int. Food. Sci, Tech* 32: pgs. 73-76

- Lazaridou, A., Serafeimidou, A., Biliaderis, C. G., Moschakis, T., Tzanetakis, N. 2014. Structure development and acidification kinetics in fermented milk containing oat B-glucan, a yogurt culture and a probiotic strain. *Food Hydrocolloids*. 39. 204-214.
- Macfarlane, S., Macfarlane, G. T., 2003, Regulation of short-chain fatty acids production, *Proceedings of the Nutritional Society* 62, pgs. 67-72
- McKee, L. H., Latner, T. H., 2000, Underutilized sources of dietary fiber, *Plant foods for human nutrition*, pgs. 285-304
- Munoz, J. M., 1982, Interactions of dietary fiber and nutrients, *Dietary Fiber in Health and Disease*, pgs. 85-89
- Oberman, H., Libudzisz, Z., 1997, Fermented milks, *Microbiology of Fermented Foods*, pgs. 308-350
- Oliveira, R. P., Perego, P., Converti, A., De Oliveira, M. N. 2009. The effect of inulin as a prebiotic on the production of probiotic fibre-enriched fermented milk. *International Journal of Dairy Technology*. 62 (2). 195-203
- Otles, S., Ozgoz, S., 2014, Health effects of dietary fiber, *Acta Sci. Pol. Technol., Aliment.*, pgs. 191-202
- Raju, P. N., Pal, D., 2012, Effect of dietary fibers on physico-chemical, sensory and textural properties of Misti Dahi, *Journal of Food Science and Technology* september,
- Rolfes, S. R., Whitney, E., 2011, *Understanding Nutrition, Thirteenth Edition*, Waldsworth Cengage Learning, ISBN: 978 1 133 58753 8, 682 p.
- Satija, A., Hu, F. B., 2012, Cardiovascular Benefits of Dietary Fiber, *Current Atherosclerosis Report*, pgs. 505-514
- Schaper, C., Krowas, D., Braun, D., 2014, Probiotic bacteria in fermented dairy products, *Archiv fur Lebensmittelhygiene*, pgs. 104-109
- Slavin, J. 2013. Fiber and prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*. 5 (4). 1417-1435.
- Takasugi, S., Ashida, K., Maruyama, S., Matsukiyo, Y., Kaneko, T., et Yamaji, T., 2013, A Combination of a Dairy Product Fermented by Lactobacilli and Galactooligosaccharides Shows Additive Effects on Mineral Balances in Growing Rats with Hypochlorhydria Induced by a Proton Pump Inhibitor, *Biological trace element research*, Pgs. 309-318
- Tamine, A., Y., Marshall, V. M. E., 1997, *Microbiology and technology of fermented milks, Microbiology and Biochemistry of cheese and fermented milk*, pgs. 57-152
- Thirabunyanon, M., Boonprasom, P., Niamsup, P., 2009, Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from fermented dairy milks on antiproliferation of colon cancer cells, *Biotechnology Letters*, Pgs. 571-576



Vitetta, L., Briskey, D., Alford, H., Hall, S., Coulson, S., 2014, Probiotics, Prebiotics, the Gastrointestinal tract in Health and disease, *Inflammopharmacology*, 22, 135-154

Vlková, E., Rada, V., 2013, Cvičení z potravinářské mikrobiologie, Česká zemědělská univerzita v Praze, ISBN: 978-80-213-2402-2, 48 p

## **9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ**

BMK	Bakterie mléčného kvašení
CPN	Celkový počet mikroorganismů
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
FMV	Fermentované mléčné výrobky
HDL	High Density Lipoprotein (typ cholesterolu)
IDF	International Dairy Federation (Mezinárodní mlékařská federace)
KTJ	Kolonie tvořící jednotka
LDL	Low Density Lipoprotein (typ cholesterolu)
UHT	Ultra High Temperature (vysokotepečný záhřev)

## **10. SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY**

### **Seznam příloh:**

Příloha 1: Formulář sensorické analýzy

Příloha 2: Fotografie Vliv přídavku vlákniny na množství odloučené syrovátky během skladování probiotických FMV

## Příloha 1: Protokol senzoričké analýzy

### Hodnocení senzoričkého profilu fermentovaného mléčného výrobku

Jméno:..... Příjmení: ..... Č. vzorku: .....

Zdravotní stav: ..... Datum a hodina:  
.....

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

#### VZHLED

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

VADY VZHLEDU: .....

#### VŮNĚ

PŘÍJEMNOST VŮNĚ: \_\_\_\_\_  
odporná velmi příjemná

VADY VŮNĚ: .....

#### KONZISTENCE

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

VADY KONZISTENCE  
.....  
.....

#### CHUŤ

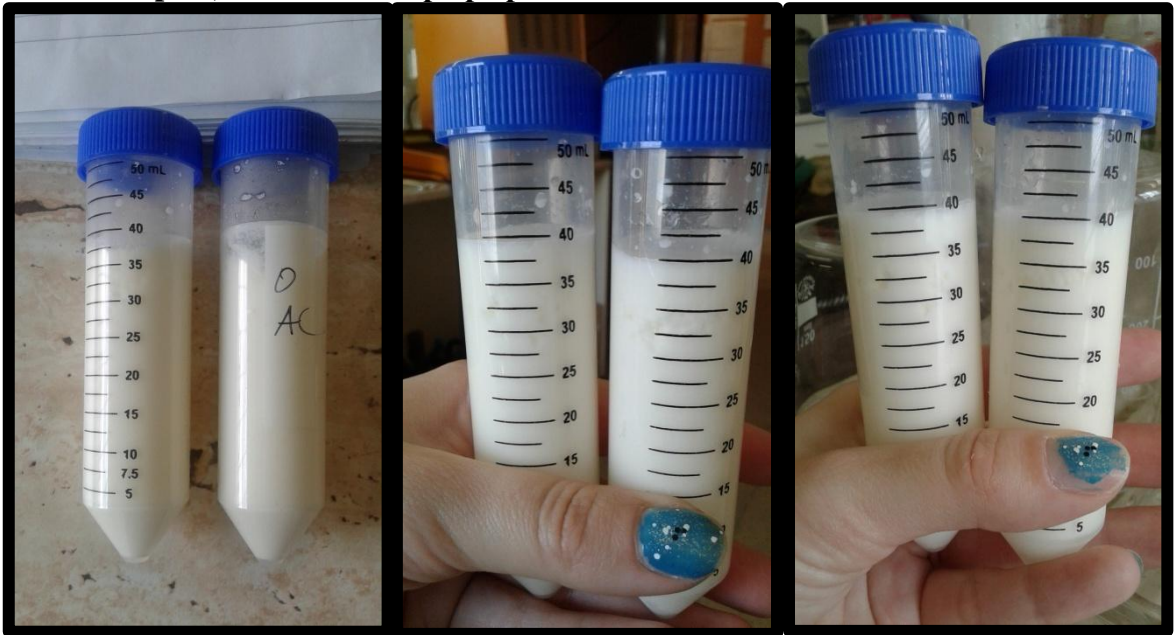
CELKOVÁ PŘÍJEMNOST  
CHUTI: \_\_\_\_\_  
odporná velmi příjemná

INTENZITA CIZÍ  
CHUTI: \_\_\_\_\_  
neznatelná velmi silná



**Příloha 2: Vliv přidavku vlákniny na množství odloučené syrovátky během skladování probiotických FMV**

**Vzorek AS po 7, 14 a 21 dnech po přípravě.**



**Vzorek AJ po 7, 21 a 28 dnech po přípravě**



Vzorek AP po 7, 21 a 28 dnech po přípravě



Vzorek AŽ po 7, 14 a 21 dnech po přípravě





Vzorek AI 7, 21 a 18 dní po přípravě



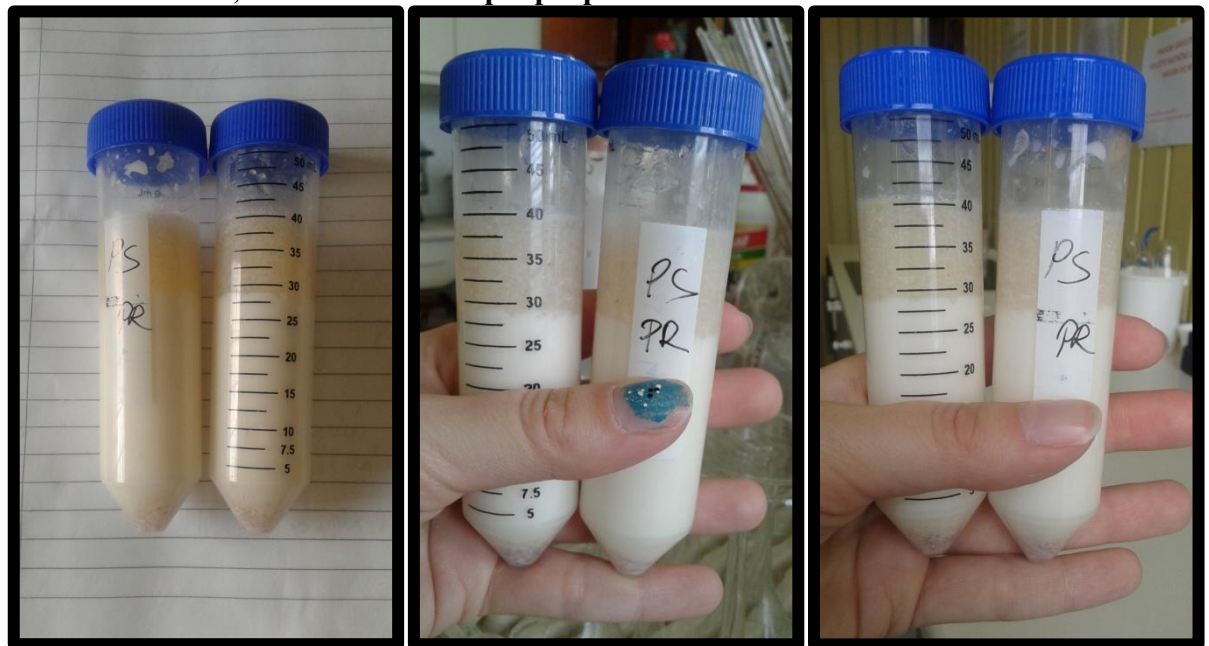
Vzorek PS po 7, 14 a 21 dnech po přípravě



**Vzorek PJ po 7, 21 a 28 dnech po přípravě**



**Vzorek PP o 7, 21 a 28 dnech po přípravě**





Vzorek PŽ po 7, 14 a 28 dnech po přípravě



Vzorek PI po 14, 21 a 28 dnech po přípravě

