



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ZPRACOVÁNÍ NÁLEVU Z KYSANÉHO ZELÍ S CÍLEM ZVÝŠENÍ STABILITY A SPOTŘEBITELSKÉ PŘIJATELNOSTI PRODUKTU

PROCESSING OF SAUERKRAUT JUICE TO ENHANCE ITS STABILITY AND CONSUMER ACCEPTANCE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Lenka Kohoutová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Julie Hoová, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1784/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Lenka Kohoutová**
Studijní program: Chemie přírodních látek
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Ing. Julie Hoová, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Zpracování nálevu z kysaného zelí s cílem zvýšení stability a spotřebitelské přijatelnosti produktu

Zadání diplomové práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí cíle:

- 1) rešerše – technologie výroby kysaného zelí, mléčná fermentace, složení nálevu
- 2) charakterizace hlavních složek nálevu (probiotika, biologicky aktivní látky)
- 3) vývoj směsných ovocno–zeleninových šťáv na bázi nálevu z kysaného zelí, jejich charakterizace a stabilizace
- 4) sensorická a nutriční analýza směsných šťáv

Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Lenka Kohoutová
studentka

Ing. Julie Hoová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

V rámci této diplomové práce byly řešeny možnosti vývoje ovocno-zeleninových šťáv s obsahem zelné šťávy, charakterizace jejich nutričních a sensorických kvalit, jejich stabilita a možnost obohacení vybraných kombinací pasterovaných šťáv s přídavkem probiotické kultury *Lactobacillus plantarum*. Na základě sensorické analýzy byly vybrány nejlepší kombinace ovocno-zeleninových šťáv, které byly skladovány po dobu 30 dní při teplotě 8 °C. U skladovaných vzorků byly během skladování sledovány změny vybraných parametrů. Spektrofotometricky byly stanoveny parametry antioxidační aktivity, obsah celkových polyfenolů, flavonoidů, celkových ve vodě rozpustných sacharidů a redukujících sacharidů; pomocí HPLC byla stanovena kyselina mléčná a L-askorbová, pomocí průtokového cytometru byl stanoven počet probiotických buněk, dále bylo měřeno pH. Viabilita probiotik byla na konci experimentu ověřena kultivačním testem. Hodnoty antioxidační aktivity a celkový obsah polyfenolů se během pozorování příliš neměnily. Naopak k výrazným změnám docházelo u obsahu celkových a redukujících sacharidů a celkových flavonoidů. Bylo zjištěno, že v průběhu 14 dní dochází k zachování probiotické viability a následně dochází k jeho poklesu. Z hlediska zachování co největšího obsahu probiotika by bylo vhodné probioticky obohacené šťávy skladovat při teplotě 8 °C maximálně 14–19 dnů. Nejvyšší viabilita byla pozorována u vzorku JHM (obsahujícím jablečnou, hruškovou, mrkvovou a zelnou šťávu ve stejném poměru). Navzdory zjištěné nízké viabilitě probiotické kultury, zůstávají tyto navrhované funkční potraviny nutričně, chuťově i vzhledově zajímavými produkty, které mohou napomoci k popularizaci konzumace netradičních lokálních potravin.

KLÍČOVÁ SLOVA

kysané zelí, šťáva, jablko, červená řepa, hruška, mrkev, *Lactobacillus plantarum*, probiotika, bakterie mléčného kvašení, spektrofotometrie, průtoková cytometrie, HPLC, sensorická analýza

ABSTRACT

This diploma thesis focuses on the development possibilities of fruit and vegetable juices containing sauerkraut juice, the characterization of their nutritional and sensory qualities and their stability, as well as the potential for enriching selected juices with probiotic culture of *Lactobacillus plantarum*. The best combinations of various juice mixtures were selected based on sensory analysis and were stored for 30 days at 8 °C. Changes in selected parameters were monitored during the storage. Antioxidant activity, total flavonoids and polyphenols content and content of total water-soluble and reducing saccharides were determined by spectrophotometric methods. HPLC was used for lactic and L-ascorbic acid determination, flow cytometry was used for probiotic cell content determination, culture test was used to observe viability of cells, pH was monitored. Contents of antioxidant activity and of total polyphenols content did not drastically change during the storage. Major changes were observed in total and reducing sugar content and total flavonoids content. It was observed that probiotic viability was preserved for 14 days, decrease occurred afterwards. In order to achieve as high content of probiotics as possible, it would be advisable to store probiotically enriched juices for maximum of 14–19 days at temperature of 8 °C. The highest viability was observed in JHM sample (containing apple, pear, carrot and sauerkraut juice in the same ratio). Even though viability of probiotic cells was determined as low, these presented functional beverages remain nutritionally, visually and taste-wise interesting products, which can help popularize the consumption of non-traditional local foods.

KEYWORDS

sauerkraut, juice. apple, beetroot, pear, carrot, *Lactobacillus plantarum*, probiotics, lactic acid bacteria, spectrophotometry, flow cytometry, HPLC, sensory analysis

KOHOUTOVÁ, Lenka. *Zpracování nálevu z kysaného zelí s cílem zvýšení stability a spotřebitelské přijatelnosti produktu*. Brno, 2023. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Julie Hoová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce paní Ing. Julii Hoové, Ph.D. za vedení, ochotu, pomoc a trpělivost při realizaci práce. Také bych ráda poděkovala rodině a blízkým za podporu během celé doby studia.

OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1	Kysané zelí.....	10
2.1.1	Výroba kysaného zelí	11
2.1.2	Zdraví prospěšné vlastnosti kysaného zelí	13
2.1.3	Aroma kysaného zelí a hodnocení kvality kysaného zelí.....	14
2.2	Šťáva z kysaného zelí.....	15
2.3	Bakterie mléčného kvašení.....	16
2.3.1	Vliv tepla na mikroorganismy	16
2.3.2	Rod <i>Lactobacillus</i>	16
2.4	Mléčná fermentace	18
2.4.1	Homofermentativní mléčné kvašení.....	18
2.4.2	Heterofermentativní mléčné kvašení.....	20
2.5	Ovocné a zeleninové šťávy	21
2.5.1	Výroba ovocných a zeleninových šťáv	21
2.5.2	Mrkvová šťáva.....	22
2.5.3	Jablečná šťáva	23
2.5.4	Řepná šťáva	25
2.5.5	Hrušková šťáva.....	26
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
3.1	Použité standardy	27
3.2	Použité laboratorní pomůcky a přístroje	27
3.3	Analyzované vzorky.....	28
3.3.1	Zelná šťáva	28
3.3.2	Jablečná šťáva	29
3.3.3	Jablečno-řepná šťáva	29
3.3.4	Hrušková šťáva.....	30
3.3.5	Mrkvová šťáva.....	31
3.4	Výroba směsných ovocno-zeleninových šťáv.....	32
3.5	Senzorická analýza.....	34
3.5.1	Metody senzorické analýzy	34
3.6	Zaočkování média a vybraných ovocno-zeleninových šťáv	35

3.6.1	Použitá kultura <i>Lactobacillus plantarum</i>	35
3.6.2	Příprava kultury	35
3.6.3	Inokulace vzorků ovocno-zeleninových šťáv.....	35
3.7	Spektrofotometrické metody	36
3.7.1	Stanovení antioxidační aktivity	36
3.7.2	Stanovení celkových polyfenolů	36
3.7.3	Stanovení celkových flavonoidů	36
3.7.4	Stanovení celkových sacharidů dle Dubois.....	36
3.7.5	Stanovení redukujících cukrů dle Somogyi-Nelsona	37
3.8	Stanovení analytů pomocí HPLC	37
3.8.1	Příprava vzorků pro HPLC.....	37
3.8.2	Metoda HPLC.....	38
3.9	Stanovení počtu viabilních buněk pomocí spektrálního průtokového cytometru	38
3.9.1	Kultivační test	38
3.10	Stanovení pH.....	38
3.11	Statistické zpracování dat	39
3.11.1	Statistické zpracování dat senzoričké analýzy	39
4	CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	40
5	VÝSLEDKY A DISKUSE	41
5.1	Senzoričká analýza.....	41
5.1.1	Demografický profil hodnotitelů.....	41
5.1.2	Senzoričké profily	43
5.1.3	Profilový a pořadový test	45
5.1.4	Korelace a parciální korelace senzoričkých deskriptorů a nutričního složení směsí šťáv	49
5.1.5	Párová porovnávací zkouška.....	52
5.1.6	Dendrogram a PCA analýza	53
5.2	Charakterizace vybraných vzorků šťáv.....	55
5.2.1	Stanovení nutričních a bioaktivních látek pomocí spektrofotometrických metod.....	55
5.2.2	Stanovení pH	61
5.3	Sledování stability vybraných vzorků šťáv obohacených probiotickou kulturou.....	62

5.3.1	Stanovení nutričních a bioaktivních látek pomocí spektrofotometrických metod.....	62
5.3.2	Stanovení senzorických a bioaktivních látek pomocí HPLC	68
5.3.3	Stanovení koncentrace probiotických buněk pomocí spektrálního průtokového cytometru	71
5.3.4	Stanovení pH	74
6	ZÁVĚR	75
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	77
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	83
9	SEZNAM PŘÍLOH.....	85
10	PŘÍLOHY	86

1 ÚVOD

Džusy a šťávy jsou spotřebitelsky populární alternativa ke konzumaci surového ovoce a zeleniny. Se stále narůstající osvětou v oblasti výživy, nutričního složení a suplementace roste i zájem spotřebitelů jíst lépe a vyváženěji, případně doplnit příjem vitaminů apod. Zvláštním případem je popularizace konzumace zeleniny u dětí, kde zelenina ve formě šťávy, džusu, smoothie nebo dřeně může snížit nechuť ke konzumaci zeleniny. Další výhodou džusů je kompaktnost a jednoduchost jejich balení a způsobu konzumace.

Konzumace ovoce a zeleniny v Česku dlouhodobě nedosahuje doporučení WHO (World Health Organisation, Světová zdravotnická organizace) a Ministerstva zdravotnictví České republiky (400 g ovoce a zeleniny na den mimo škrobovin, např. brambor) [1]. V roce 2021 byla průměrná denní spotřeba zeleniny (mimo brambor) 70 g, ovoce pak 240 g, z toho 130 g ovoce mírného pásma [2]. V těchto hodnotách je započítána i výrobní spotřeba, přesto však celková denní spotřeba ovoce a zeleniny (310 g) nedosahuje doporučené hodnoty (400 g). Každý nový produkt s obsahem zeleniny tedy napomáhá navýšit jejich konzumaci a přiblížit se doporučené hodnotě. Česká republika je však závislá na dovozu ovoce a některých druhů zeleniny. Její soběstačnost v roce 2021 v produkci jablek představovala 78,5 %, v produkci mrkve 51,2 % a v produkci zelí 58,0 % [2].

Čerstvé kysané zelí i zelná šťáva přirozeně obsahují probiotické kultury, které jsou ovšem zničeny její pasterací. Mezi další přirozeně probiotické potraviny patří např. kefír, acidofilní mléko, jogurt, kimči (korejský pikantní salát z nakládané a fermentované zeleniny) a nakládané okurky. Probiotika se dále užívají jako doplňky stravy.

Probiotika jsou obecný název pro mikroorganismy, které svému hostiteli poskytují pozitivní zdravotní účinek (posílení imunity, zmírnění alergií a zácpy, prevence a zmírnění průjmů a zánětů střev, prevence rakoviny). Jejich příjem je vhodné doplnit příjmem prebiotik ve formě rozpustné vlákniny, která stimuluje jejich růst a aktivitu.

V rámci této diplomové práce byly řešeny možnosti vývoje ovocno-zeleninových šťáv s obsahem zelné šťávy, charakterizace jejich nutričních a sensorických kvalit a jejich stability. Práce také rozváděla možnosti obohacení těchto šťáv o probiotikum přídavkem *Lactobacillus plantarum* a sledováním jejich dlouhodobé stability.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Kysané zelí

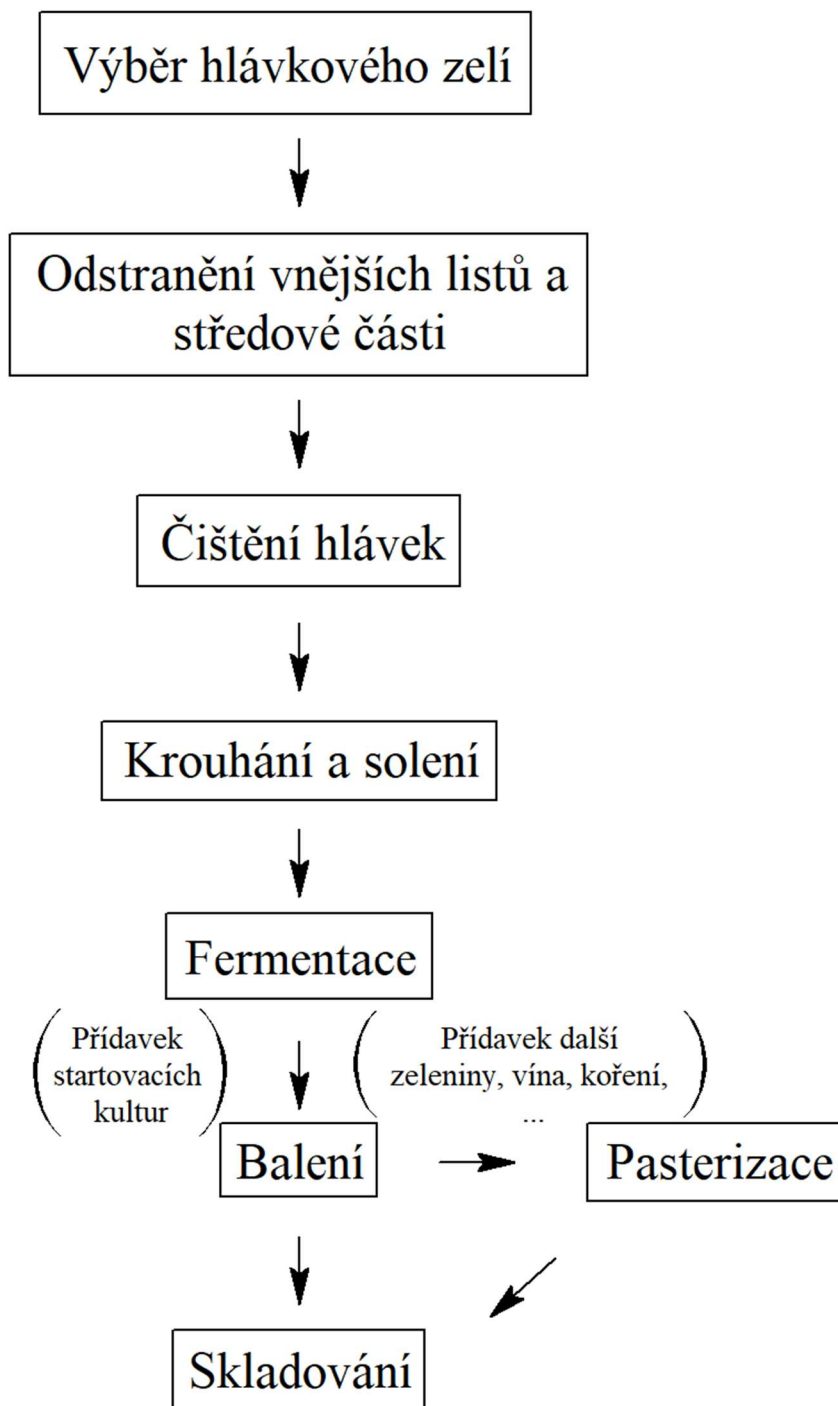
Kysané zelí je tradiční potravina nejen střeoevropské kuchyně [3]. Jedná se o zkvašené nakrouhané listy zelí hlávkového (*Brassica oleracea* convar. *capitata*) [3], které je v poslední době považováno za tzv. superpotravinu [4], což je marketingové označení pro potraviny obsahující velké množství prospěšných nutričních látek [5]. Obsah nutričních látek je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1 Obsah nutričních látek v kysaném zelí [6]

Složka	Jednotka	Obsah
Voda		91
Celkový dusík		0,17
Bílkoviny	g/100 g kysaného zelí	1,1
Tuky		stopová množství
Sacharidy		1,1
Energetická hodnota	kcal/100 g kysaného zelí	9
	kJ/100 g kysaného zelí	36
Škrob		stopová množství
Celkové cukry		1,1
Glukosa		0,7
Fruktosa	g/100 g kysaného zelí	0,3
Sacharosa		0,1
Vláknina		2,2
Mastné kyseliny		stopová množství
Na		590
K		180
Ca		50
Mg		10
P		23
Fe	mg/100 g kysaného zelí	1,2
Cu		0,05
Zn		0,3
Cl		860
Mn		0,2
β-karoten	μg/100 g kysaného zelí	18
Vitamin B ₁ (thiamin)		0,04
Vitamin B ₂ (riboflavin)	mg/100 g kysaného zelí	0,01
Vitamin B ₃ (niacin)		0,2
Vitamin B ₆ (pyridoxin)		0,15
Folát	μg/100 g kysaného zelí	16
Vitamin B ₅ (kyselina pantothenová)	mg/100 g kysaného zelí	0,23
Vitamin C		10

2.1.1 Výroba kysaného zelí

Vypěstované zelí je obvykle zpracováno v okolí místa jeho produkce [3, 7]. Zpracování zelí je prováděno v tzv. zelárnách, hojně rozšířená je i domácí výroba. Zjednodušené schéma výroby je znázorněno na obrázku 1.



Obrázek 1 Schéma výroby kysaného zelí [3]

Nejprve podléhají sklizené zelné hlávky kontrole kvality, sleduje se barva, kondice listů, poškození (hmyzem, aj.), obsah sušiny, cukrů, vitamínu C, dusíku a residuí pesticidů [3]. Ze

zkontrolovaných hlávek jsou odstraněny vnější listy a středové části a hlávky jsou umyty vodou. Poté následuje krouhání prováděné strojově na proužky 0,7–2,0 mm silné. Následuje solení pomocí 0,7–2,5% roztoku chloridu sodného. Mohou být též přidány koření látky (např. kmín). Osolené nakrouhané zelí je napěchováno do kvasných nádob (v průmyslu se používají nádoby o kapacitě 100 kg až 40 t [7]), které jsou těsně uzavřeny a zatíženy tak, aby byl vytlačen vzduch. Následuje kvašení spontánní nebo za použití startovacích kultur. Fermentace může trvat různě dlouhou dobu, počínaje jedním týdnem konče několika měsíci. Po ukončení fermentace je kysané zelí zabaleno do plastových či skleněných obalů a konzumováno čerstvé nebo pasterované. [3, 7]

2.1.1.1 Spontánní fermentace kysaného zelí

Na syrovém zelí žije široká paleta mikroorganismů (např. bakterie aerobního kažení potraviny rodů *Pseudomonas* a *Enterobacter*, kvasinky, plísně, bakterie mléčného kvašení). Po uzavření a zatížení kvasných nádob dojde ke snížení obsahu kyslíku, což podporuje růst bakterií mléčného kvašení (BMK). Nejprve převládají heterofermentativní procesy, spojené zejména s *Leuconostoc mesenteroides* nebo *Leuconostoc fallax*, především kvůli menší toleranci ke kyselému prostředí, mikroaerofilně a kratší generační dobou. Tyto BMK produkují značná množství kyseliny octové a mléčné (vede k poklesu pH) a CO₂. Po snížení pH pod hodnotu 4,5 a zvýšení obsahu kyseliny mléčné nad 0,7–1 % dojde k rozmachu acidofilnějších homofermentativních bakterií, např. *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus brevis*. Tyto druhy produkují kyselinu mléčnou a převažují v pozdějších stádiích fermentace. Na konci kvašení dosahuje pH hodnot 3,4–3,7, obsah kyseliny octové se pohybuje okolo 1 % a kyseliny mléčné je více než 2 %. [3, 7]

Kvalita a chuť spontánně fermentovaného zelí závisí na původní skladbě mikrobiomu a na kvalitě zeleniny. Mikrobiom ovlivňuje fyzikální a výživové hodnoty hotového výrobku. [3]

2.1.1.2 Fermentace pomocí startovacích kultur

Aby bylo dosaženo požadované a konzistentní kvality, je možné nahradit spontánní fermentaci použitím startovacích kultur, čímž dojde ke snížení vlivu původní skladby mikrobiomu hlávkového zelí. [7]

Důležitými hledisky při výběru kmenů pro startovací kultury jsou adaptace k zelnému substrátu, tolerance k nízkému pH a k vysoké koncentraci solí, vysoká rychlost růstu a rychlost produkce kyselin, schopnost heterofermentativního procesu, produkce antimikrobiálních látek (bakteriociny a peroxid vodíku). Lze použít kultury z jednoho či více kmenů bakterií, popřípadě lze inokulovat kysaným zelím z předchozí fermentace. [3]

Použitím startovacích kultur lze získat vysoce kvalitní produkt se zvýšeným obsahem bioaktivních látek či se sníženým obsahem solí a biogenních aminů. Lze použít kultury s *Leuconostoc mesenteroides* a *Lactococcus lactis* (inhibice přirozeně vyskytujících se bakterií mléčného kvašení), s *L. mesenteroides* a *Pediococcus dextrinicus* (zvýšený obsah prospěšných fotochemikálií), *Lactobacillus sakei* (zvýšená antimikrobiální aktivita a koncentrace bioaktivních látek), *L. mesenteroides* (v kombinaci s minerální solí se sníženým obsahem NaCl). Použití probiotických kultur s obsahem *L. plantarum* L4 a *L. mesenteroides* LMG 7954 vedlo ke snížení obsahu NaCl z 4,0 % na 2,5 %, zrychlení fermentace o 14 dní a výsledný

produkt lze označit za probiotický (obsah viabilních probiotických buněk byl vyšší než 10^6 CFU/g hotového produktu) [8].

2.1.2 Zdraví prospěšné vlastnosti kysaného zelí

Kysané zelí obsahuje vitamin C, vitamin E a další fenolické látky, které se chovají jako zhášeče radikálů, a tím chrání proti oxidativnímu stresu. Oxidativní stres je stav, kdy produkce reaktivních kyslíkových metabolitů (ROS, reactive oxygen substance) je vyšší než ochranná antioxidační aktivita organismu, který je jedním z faktorů přispívajícím ke stárnutí a k patogenezi chronických problémů (např. kardiovaskulární, neurodegenerativní a rakovinná onemocnění). [9]

2.1.2.1 Vitamin C

Vitamin C (kyselina askorbová a dehydroaskorbová, askorbinogeny) je hydrofilní antioxidant. Funguje jako kofaktor enzymů (jako donor elektronů), zhášeč hydroxylových a superoxidových radikálů (kdy přechází na askorbylový radikál) a snižuje hladinu C-reaktivního proteinu, který je spojován s chronickým zánětem a aterosklerózou [3, 9]. Jeho konzumace přispívá ke snížení krevního tlaku při hypertenzi, zvyšuje hladinu HDL cholesterolu a chrání proti následkům diabetu mellitu (např. diabetické retinopatii) [10]. Doporučená denní dávka vitaminu C se pohybuje v rozmezí 60–200 mg, u pacientů s respiračními chorobami a při rekonvalescenci se doporučuje příjem navýšit na 1 000 mg i více. Potřeba je pokryta konzumací ovoce (nejvíce vitaminu C z lokálních surovin obsahuje šípek, 2 500–10 000 mg/kg) a zeleniny (v kadeřavé petrželi je obsah vitaminu C 1 500–2 700 mg/kg, významným zdrojem vitaminu C jsou i hojně konzumované brambory s obsahem 80–400 mg/kg). Nedostatek vitaminu C (hypovitaminóza) se projevuje nejčastěji únavou, úplný nedostatek (avitaminóza) pak kurdějemí. [11]

2.1.2.2 Vitamin E

Vitamin E (tokoferoly, tokotrioly) je lipofilní antioxidant. Podstatou je poskytnutí vodíkového iontu za vzniku málo reaktivního tokoferylového radikálu. Je schopen inhibovat oxidaci LDL cholesterolu, čímž chrání proti ischemické chorobě srdeční [9]. Doporučená denní dávka závisí na příjmu polyenových mastných kyselin, doporučuje se přijímat 20–30 mg. Potřeba je kryta zejména konzumací potravin rostlinného původu, např. ve vlašských ořechích (35,4 mg/kg), v obilních klíčcích a v otrubách (15–50 mg/kg), v olejích (největší obsah vitaminu je v sójovém oleji, 530–2 000 mg/kg). V ovoci a zelenině se vyskytuje v menším množství (jablka 1,8–7,4 mg/kg, zelí 0,2–11 mg/kg). Deficience je vzácná, vyskytuje se u novorozenců a adolescentů, projevuje se myopatií a encefalomalacií. [11]

2.1.2.3 Isothiokyanáty

Produkty hydrolýzy glukosinolátů (zejména isothiokyanáty a fenyliothiokyanáty) prokazují antioxidační aktivitu vůči hydroxylovým radikálům *in vitro* [12] a mohou inhibovat karcinogenezi [13].

2.1.2.4 Bakterie mléčného kvašení (BMK) a probiotika

„Probiotika jsou definována jako živé mikroorganismy, které jsou-li podávány v adekvátním množství, přispívají ke zlepšení zdravotního stavu hostitele. Jako probiotické kultury jsou obvykle používány bakterie, které přirozeně obývají lidský trávicí trakt. Nejpoužívanější jsou

bakterie rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Příznivé účinky probiotických bakterií zahrnují tlumení alergií, imunostimulační účinky, prevenci kolorektálního karcinomu, zmírnění zácpy a prevenci a podpůrnou terapii zánětlivých střevních onemocnění a průjmů.“ [14]

BMK přítomné v kysaném zelí prokázaly probiotické vlastnosti. U kultur *Lactobacillus paraplantarum* SF9, *Lactobacillus brevis* SF15 a dalších zástupců rodu *Lactobacillus* byla prokázána schopnost přežít v simulovaných kyselých podmínkách gastrointestinálního traktu a inhibice růstu patogenů (grampozitivní a gramnegativní bakterie, *Salmonella*) [15, 16].

2.1.3 Aroma kysaného zelí a hodnocení kvality kysaného zelí

Pro aroma zelí je typická přítomnost isothiokyanátů, které vznikají rozkladem glukosinolátů. Mezi ně patří např. allylisothiokyanát (vzniká ze sinigrinu), but-3-en-ylisothiokyanát (vzniká z glukonapinu) a 2-fenylethylisothiokyanát (vzniká z glukonasturiinu). Tyto látky jsou zodpovědné za pálivou chuť. Dále jsou charakteristické sirné sloučeniny, např. dimethylsulfid a dimethyltrisulfid (vzniklé rozkladem *S*-methylcysteinsulfoxidu, cysteinu a methioninu). Významné jsou též nitrily vzniklé při rozkladu glukosinolátů, hlavně pak allylkyanid (vonící po česneku), dále pak pent-4-ennitril. Původcem hořké chuti je goitrin vznikajícího z progoitrinu. Za červenou barvu červených odrůd jsou odpovědná anthokyanová barviva (kvanidin-3-soforosid-5-glukosid acylovaný malonyl-, *p*-kumaroyl-, di-*p*-kumaroyl-, feruloyl-, diferuloyl-, sinapoyl- nebo disinapoylestery). [11]

Při testování kysaného zelí se hledí na několik aspektů, např. žurnál dTest sledoval senzorycké kvality (s podílem na celkové známce 30 %), mikrobiologické testy (s podílem na celkové známce 20 %), obsah vitamínu C (s podílem na celkové známce 15 %), deklaraci hmotnosti, pevného podílu a obsahu soli (s podílem na celkové známce 15 %), kvalitu prokvašení (s podílem na celkové známce 10 %) a obsah nežádoucích látek (s podílem na celkové známce 10 %) [17]. Žurnál CZ TEST prováděl senzorycké hodnocení, hodnocení mikrobiologické kvality (nepřítomnost *Listeria monocytogenes* a *Salmonella* spp.) a stanovení obsahu vitamínu C, kyseliny mléčné, soli a kyseliny benzoové a sorbové, hmotnosti a hmotnosti pevného podílu a hodnoty pH [18].

V senzoryckém hodnocení žurnálu dTest byla posuzována příjemnost barvy (u bílého zelí světle žlutá s typickým prosvítáním), kvalita nakrouhání a textura krouhanky (stejněměrná a jemné nastrouhání, nepřítomnost zavadlých kusů listů, kousků košťálu a napadnutých listů) a příjemnost vůně a chuti (lahodná kyselost, přiměřená slanost, typičnost a čistota) [17]. Žurnál CZ TEST se zaměřil na barvu, velikost krouhanky, čistotu a intenzitu vůně, příjemnost celkové chuti, intenzitu slané, sladké a hořké chuti, texturu, kořeněnost a intenzitu pachutí [18]. Mikrobiologicky byly stanoveny bakterie mléčného kvašení (ČSN ISO 13721) a kvasinky a plísně (ČSN ISO 21527-1) [17]. Vitamin C byl stanoven pomocí metody HPLC (vysokovýkonné kapalinové chromatografie) s UV detekcí [17]. Deklarace hmotnosti a pevného podílu byla stanovena vážkově, obsah soli byl ověřen metodou AAS (atomová absorpční spektrometrie) [17]. Kvalita prokvašení byla stanovena měřením obsahu kyseliny mléčné, mravenčí a octové pomocí izotachoforézy, celkového množství těkavých kyselin titračně po destilaci, obsahu ethanolu pomocí GC/FID (plynová chromatografie s plamenoionizačním detektorem), pH pomocí pHmetru [17]. Z nežádoucích látek byly

stanoveny oxid siřičitý a siřičitany (titračně po destilaci), kyselina sorbová a benzoová (pomocí HPLC/UV), olovo a kadmium (pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, ICP-MS) a dusičnany (pomocí izotachoforézy) [17].

2.2 Šťáva z kysaného zelí

Šťávou z kysaného zelí se rozumí nálev vzniklý při výrobě kysaného zelí. Kysané zelí s menším obsahem nálevu je zákaznický populárnější, proto se část nálevu při jeho přebytku může odebrat a je možné ji dále komerčně využít. Pro zvýšení množství produkce zelné šťávy je možno hlávkové zelí nakrouhat více najemno (při krouhání na části velké zhruba 1 mm × 1 mm je výtěžek šťávy 80 % [19]), případně je možné šťávu z kysaného zelí vylisovat. Šťávu je možné zakoupit v pasterovaném nepasterovaném stavu (pasterizací je možno prodloužit trvanlivost výrobku na úkor inhibice prospěšných přirozených BMK, sensorických a nutričních změn).

Šťávu z kysaného zelí lze vyrobit i zkvašením čerstvé šťávy z hlávkového zelí na obsah kyseliny mléčné alespoň 1,2 %, poté se filtruje a dekantuje 4–6 hodin, znovu se filtruje, příp. se čirí 1–2% bentonitem. Následně se ohřívá na teplotu 70 °C, plní se a pasteruje se při 80 °C 20–40 minut dle velikosti obalu. Před plněním je možné šťávu zředit vodou. [20]

Nutriční složení šťávy z kysaného zelí je uvedeno v tabulce 2. Data byla získána analýzou trhu (patnáct produktů vyrobených v České republice, Německu a Maďarsku) a jsou uvedena v příloze 6).

Tabulka 2 Nutriční složení šťávy z kysaného zelí

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	12,87±2,73
	kJ/100 ml šťávy	54,00±11,58
Tuky	g/100 ml šťávy	0,23±0,17
z toho nasycené mastné kyseliny		0,06±0,04
Sacharidy		1,74±0,71
z toho cukry		0,83±0,39
Bílkoviny		0,85±0,36
Sůl		1,01±0,54
Vláknina		0,11±0,20

2.3 Bakterie mléčného kvašení

BMK jsou tradičně spojeny s výrobou kvašených potravin a krmiv a jsou obecně vnímány jako prospěšné nebo zdraví prospěšné (probiotické) organismy, mohou mezi nimi být i lidské či zvířecí patogeny (některé druhy z rodů *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* a *Carnobacterium*). Jedná se o grampozitivní, nesporulující a nerespirující, aerotolerantní koky nebo tyčinky, které převážně produkují kyselinu mléčnou v metabolismu sacharidů. Zástupci jsou druhy *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Tetrageonococcus*, *Vagococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weisella*, *Lactococcus* a *Streptococcus*. [21]

2.3.1 Vliv tepla na mikroorganismy

Konzervační účinek tepelného zákroku spočívá v denaturaci proteinů, která v mikroorganismech ničí enzymatickou aktivitu a metabolismus ovládaný enzymy. Při dostatečně vysoké teplotě se jedná o reakci prvního řádu, stejné procento mikroorganismů zemře v daném časovém intervalu, nehlédě na počáteční počet mikroorganismů. Čas potřebný k usmrcení 90 % mikroorganismů při dané teplotě je označován jako decimální redukční čas *D*. Jeho hodnota je charakteristická pro daný mikroorganismus. Usmrcení mikroorganismů je závislé také na teplotě, hodnota *D* vyjadřuje změnu teploty potřebnou ke snížení decimálního redukčního času o jeden řád. [22]

Úspěšnost teplotně konzervačního zákroku ovlivňuje řada dalších faktorů. Mezi tyto faktory se řadí druh či kmen mikroorganismu, zda se jedná o vegetativní formu či sporu, podmínky inkubace (teplota, stáří kultury, médium) a podmínky při tepelném zákroku (pH, aktivita vody a složení potraviny). [22]

2.3.1.1 Tepelné ošetření džusů

Pasterizace je šetrné tepelné ošetření potravin, kdy dojde k zahřevu na teplotu pod 100 °C. V případě pasterizace džusů je cílem inaktivace enzymů (zejm. pektinesterasa a polygalakturonasa) a zničení mikroorganismů způsobujících kažení (kvasinky a plísně). Obvykle dochází k zahřátí na 65 °C po dobu 30 min, na 77 °C po dobu 1 min nebo na 88 °C po dobu 15 s; následuje rychlé zchlazení na teplotu 3–7 °C. Pasterizací dohází pouze k minimálním změnám v obsahu vitamínu C a karotenů, může ovšem dojít k úniku těkavých aromatických látek (které často maskují vařivé příchutě). Prodloužení trvanlivosti se pohybuje od několika dnů po několik týdnů, často se je třeba pasterizaci kombinovat s např. chlazením. [22]

Sterilizace je tepelná konzervace potravin, jejíž cílem je destrukce patogenních mikroorganismů, a to zahřevem nad 100 °C. Oproti pasterizaci je více prodloužena trvanlivost a často je možné potraviny skladovat při pokojové teplotě, nicméně dochází k větším nutričním (zejm. ztráta vitamínů) a senzorickým (rozpad chlorofylů, karotenů a anthokyanů, gelatinizace škrobů, hydrolýza pektinů) změnám. [22]

2.3.2 Rod *Lactobacillus*

Zástupci rodu *Lactobacillus* jsou mikroaerofilní grampozitivní bakterie, obývající prostředí mléčných výrobků bohatých na živiny, mikrobiálně bohaté povrchy sliznic i půdu a rostliny. Různá prostředí mají vliv na šířku a diverzitu rodu; řadí se sem více než 100 druhů; mezi

biologicky, technologicky a komerčně významné druhy patří *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* a *L. salivarius*. [21]

V potravinářství a krmivářství najdou využití jako startovací kultury pro fermentaci potravin a jako probiotika. V potravinách se využívají k výrobě fermentovaných mléčných výrobků, např. jogurtů, sýrů, fermentovaných mlék a kefirů, fermentované zeleniny, např. kysaného zelí a různých druhů nakládané zeleniny, při výrobě kváskového pečiva. Zástupci *Lactobacillus* (např. *L. sakei*) se také přirozeně vyskytují i v čerstvém a rybím mase nebo se používají k jeho fermentaci. Vyskytovat se mohou také vyskytovat v pivu a vínu, kde mohou přispívat k chuťovému profilu nebo mohou být kontaminanty. V krmivářství se využívá *L. plantarum* a *L. buchneri* k výrobě siláže. [21]

Bakterie rodu *Lactobacillus* se využívají jako probiotika buď přímo k výrobě fermentovaných potravin, nebo jako přídavek do nefermentovaných potravin. Mezi klinicky zdokumentované kmeny *Lactobacillus* patří mj. *L. acidophilus* NCFM, *L. acidophilus* La-5, *L. casei* Shirota, *L. casei* DN-114 001, *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* HN001, *L. rhamnosus* GR-1, *L. plantarum* 299v, and *L. reuteri* ATCC 55730. [21]

2.3.2.1 *Lactobacillus plantarum*

Kmeny *Lactobacillus plantarum* se využívají jako startovací kultury pro výroby fermentovaných masných a zeleninových výrobků, anebo pro výrobu siláže. Dále mají probiotický účinek na mikrobiom konzumenta. Při výběru konzumenta je důležité brát v potaz schopnost přežití v prostředí zažívacího traktu. [23]

Kmen *L. plantarum* L4 má prokazatelný antimikrobiální efekt proti enteropatogenním (*Staphylococcus aureus* 3048 a K-144, *Escherichia coli*, *Salmonella mumm*) a sporulujícím bakteriím (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*), BMK (*Enterococcus faecium*) a kvasinkám (*Candida tropicalis*, *C. pseudotropicalis*). Významnou roli pro antimikrobiální efekt hraje produkce kyseliny mléčné. Dále je tento kmen odolný vůči nízkému pH (pH = 4, oproti výše zmíněným mikroorganismům), aktivitě lysozymu a vysoké koncentraci fenolů. Byla prokázána schopnost přežít v prostředí žlučových solí a rezistence vůči běžně předepisovaným antibiotikům. [23]

L. plantarum roste v teplotním rozmezí 8–40 °C (v mléce) [24]. Některé kmeny splňují podmínky GRAS (generally recognised as safe, obecně považovaný za bezpečný). Konkrétně se jedná o kmeny CECT 7527, 7528 a 7529 (pro použití v mléčných, sójových a cukrářských výrobcích a žvýkačkách o maximálním obsahu $4 \cdot 10^{10}$ CFU/porci pro jeden kmen nebo $1,2 \cdot 10^9$ CFU/porci pro kombinaci kmenů, GRN No. 953 [25]), ECGC 13110402 (potravinářská ingredience, mimo použití pro dětskou výživu, o maximálním obsahu $1 \cdot 10^{10}$ CFU/porci, GRN No. 847 [26]), Lp-115 (pro použití v mléčných, sójových a cukrářských výrobcích, nápojích a žvýkačkách o maximálním obsahu $5 \cdot 10^{11}$ CFU/porci, GRN No. 722 [27]) a 299v (potravinářská ingredience o maximálním obsahu $1 \cdot 10^{11}$ CFU/porci, GRN No. 685 [28]).

2.4 Mléčná fermentace

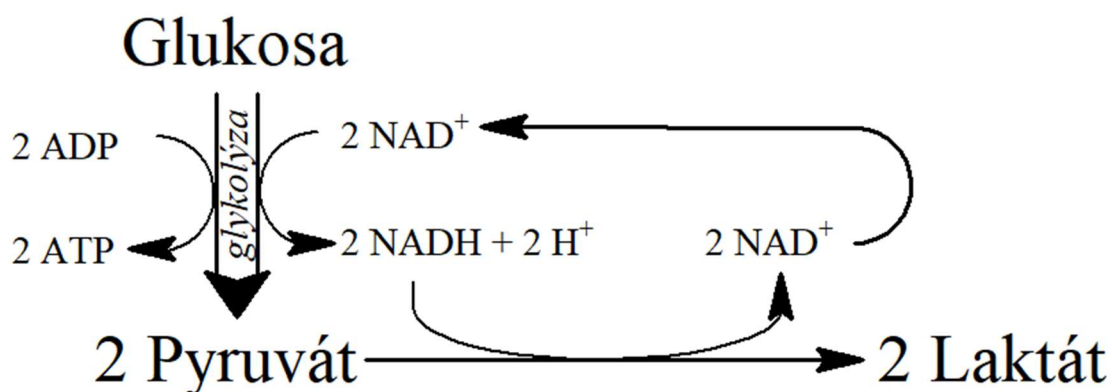
BMK jsou anaerobní a nedisponují respiračním systémem, potřebují tedy získat energii fosforylací substrátu. Při metabolismu hexos dominují dvě fermentativní dráhy: homofermentativní a heterofermentativní mléčné kvašení [21].

Typ fermentace je důležitým kritériem pro taxonomii BMK. Rody *Leuconostoc*, *Oenococcus* a *Weissella* a druhy *Lactobacillus brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. fermentum* a *Lb. reuteri* jsou obligátně heterofermentativní. Obligátně homofermentativní druhy laktobacilů (*Lb. acidophilus*,

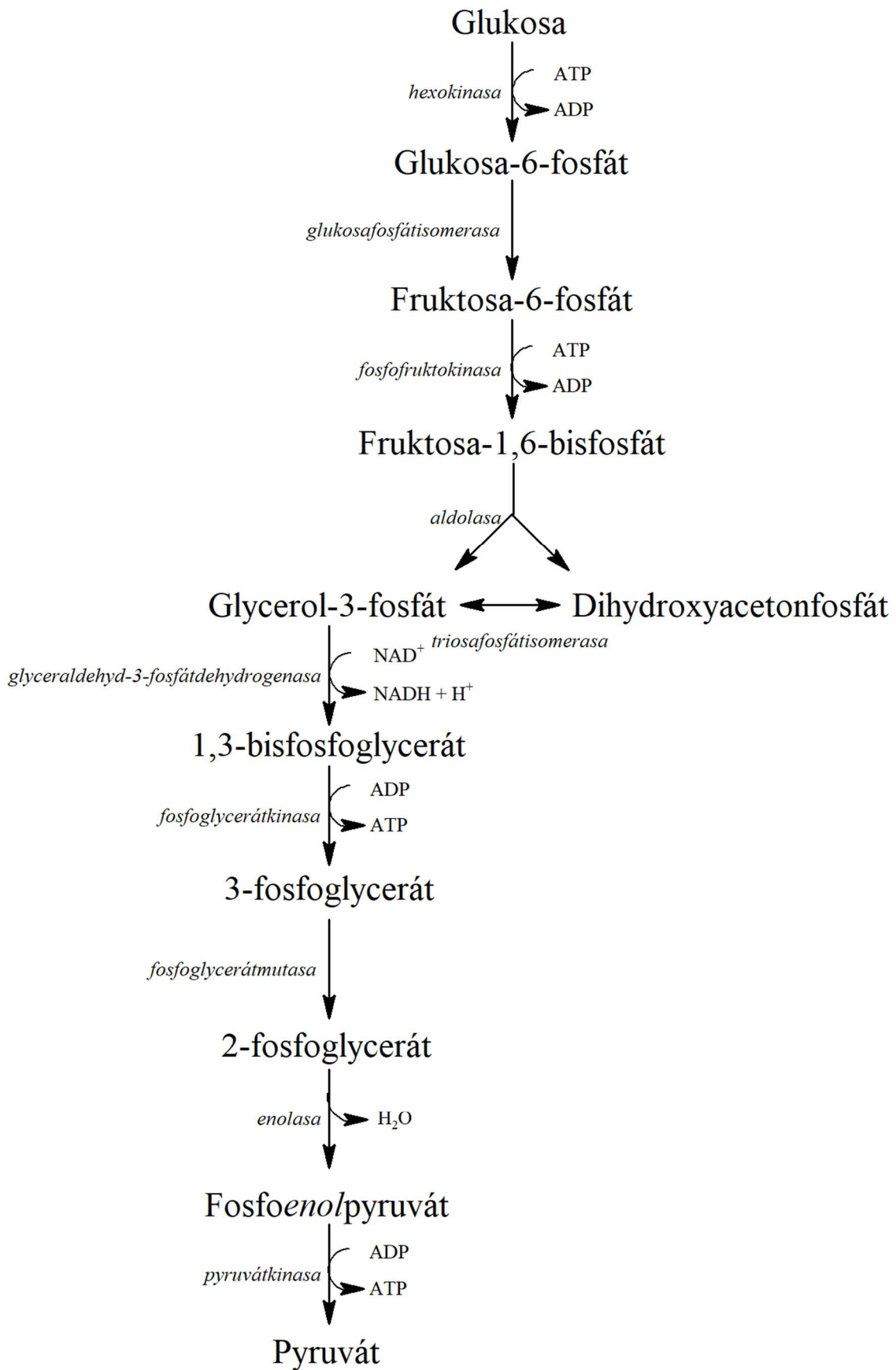
Lb. delbrueckii, *Lb. helveticus* a *Lb. salivarius*) nemohou metabolizovat pentosy. Fakultativně heterofermentativní laktobacily (*Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Lb. sakei*) a většina dalších bakterií mléčného kvašení metabolizují hexosy homofermentativně, ale také fermentují pentosy [21].

2.4.1 Homofermentativní mléčné kvašení

Homofermentativní mléčné kvašení (obrázek 2) navazuje na glykolýzu (obrázek 3) nebo na Embden-Meyerhof-Parnasovu (EMP) dráhu [21]. Produktem homofermentativního kvašení jsou dva moly ATP na jeden mol glukosy a téměř výhradně (90 %) mléčná kyselina, většinou ve formě D-laktátu.



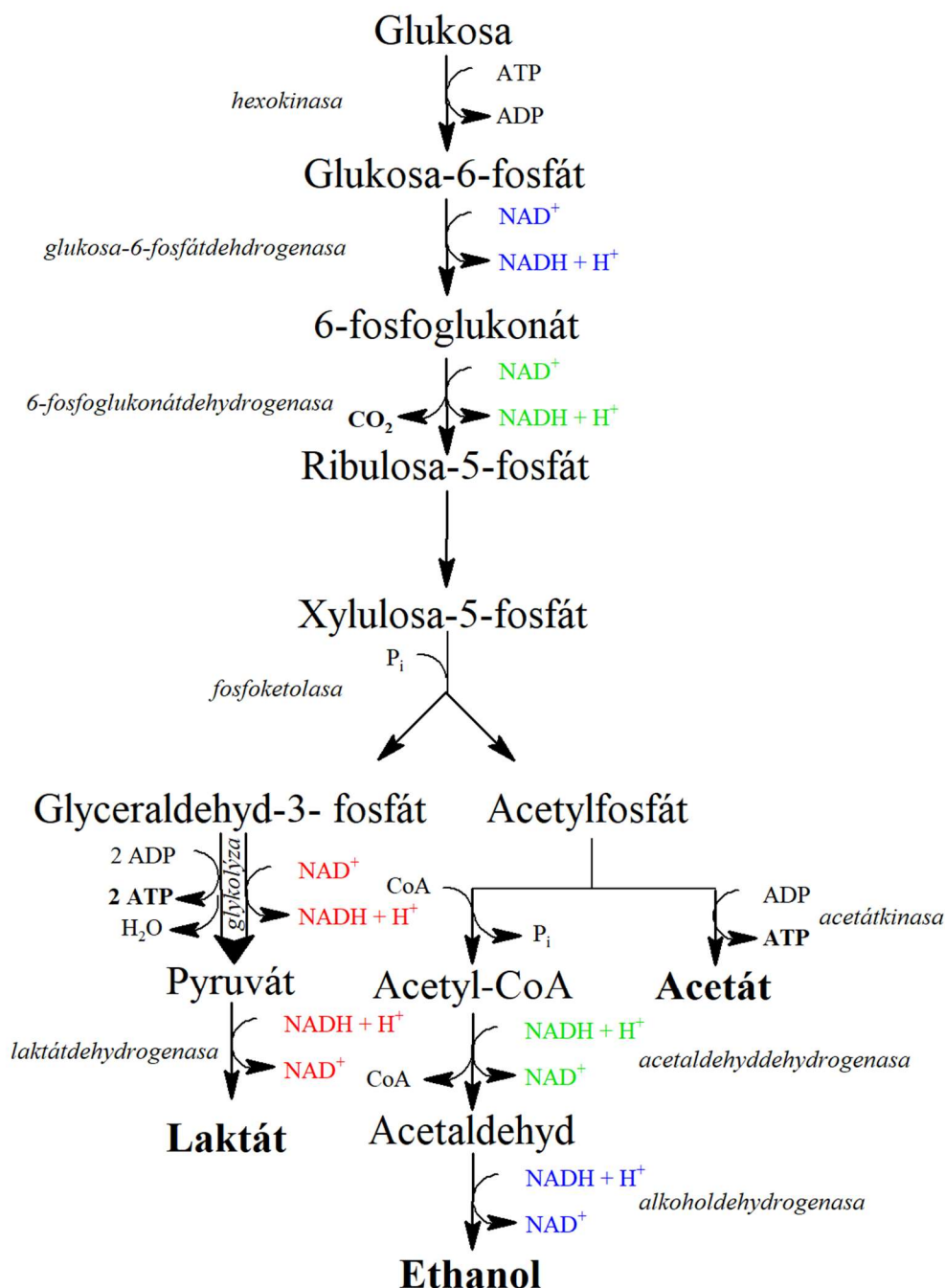
Obrázek 2 Schéma homofermentativního mléčného kvašení. Převzato a upraveno z [21]



Obrázek 3 Schéma glykolýzy. Převzato a upraveno z [21]

2.4.2 Heterofermentativní mléčné kvašení

Heterofermentativní mléčné kvašení navazuje na fosfoketolasovou dráhu, také známou jako hexosomonofosfátový zkrat, HMP či 6-fosfoglukonátová dráha. Produktem heterofermentativního mléčného kvašení je vedle laktátu i ethanol, kyselina octová, H_2 a CO_2 , na jeden mol hexosy či pentosy vzniká jeden mol ATP, popř. dva moly ATP, je-li acetylfosfát v přítomnosti alternativního akceptoru elektronu defosforylován na kyselinu na kyselinu octovou. Tímto způsobem lze fermentovat pentosy (které vstupují do fosfoketolasové dráhy jako ribulosa-5-fosfát nebo xylulosa-5-fosfát), v takovém případě ale nevzniká CO_2 . [21]



Obrázek 4 Schéma heterofermentativního mléčného kvašení navazujícího na fosfoketolasovou dráhu. Převzato a upraveno z [21]

2.5 Ovocné a zeleninové šťávy

Ovocnou, zeleninovou nebo ovocno-zeleninovou šťávou se rozumí nápoj čirý až kalný, případně s obsahem protlaku, dřene, či kousků ovoce nebo zeleniny, bez cizích nepovolených příměsí. [29]

Ovocná nebo zeleninová šťáva je nezkvašený, ale zkvasitelný nápoj, vyrobený z jednoho nebo více druhů ovoce nebo zeleniny; z jedlých částí zralého a zdravého, chlazeného či zmrazeného ovoce nebo zeleniny, s barvou, chutí a vůní charakteristickou pro šťávu z příslušného ovoce či zeleniny. Aroma, dužnina a buňky získané ze stejného ovoce či zeleniny mohou být do šťávy vráceny. [29]

Čerstvá ovocná, zeleninová nebo ovocno-zeleninová šťáva je nezkvašený, ale zkvasitelný výrobek, vyrobený z jednoho nebo více druhů ovoce nebo zeleniny; z jedlých částí zralého a zdravého, chlazeného či zmrazeného ovoce nebo zeleniny; s barvou, chutí a vůní charakteristickou pro šťávu z příslušného ovoce či zeleniny. Do čerstvých šťáv nelze přidat další složky s výjimkou bylin a semen rostlin a výrobek nesmí být dál ošetřený. [29]

Přírodní ovocná, zeleninová nebo ovocno-zeleninová šťáva je výrobek odpovídající čerstvé ovocné, zeleninové nebo ovocno-zeleninové šťávě, který je ošetřen pouze šetrnou metodou a nebyly k němu přidány žádné další složky. [29]

Šetrnou metodou se rozumí způsob inaktivace mikroorganismů do teploty šťávy 35 °C prováděný ošetřením vysokým tlakem nebo též paskalizací v řádu 4 000 až 8 000 barů po dobu výdrže 1 až 15 minut nebo vysokonapěťovými pulsy procházejícími ošetřovanou šťávou nebo šokovým mražením. [29]

2.5.1 Výroba ovocných a zeleninových šťáv

K výrobě se používají vhodné odrůdy (vysoký podíl šťávy, kyselin, aj.) zralého a zdravého (choroby a mechanické poškození) ovoce nebo zeleniny. Suroviny mohou být do místa zpracování dopraveny plavením. Následuje praní a inspekce surovin a odstranění nepoživatelných částí, neprovádí se však antioxidační zákrok. [30]

Surovina je dále nadrcena za použití struhadlových, kladívkových nebo jehlových mlýnků pro optimální rozdrčení buněk a zároveň zachování hrubších částí pro odtok šťáv při lisování. Při drcení se do drti mohou přidat pektolytické enzymatické preparáty pro zvýšení účinnosti lisování o zhruba 10 % (zvyšuje stupeň rozdrčení buněk, snižuje viskozitu, navýšení refrakce šťávy za současného ztmavení barvy produktu oxidací). Enzymatické ošetření trvá 30–40 minut při teplotě 20 °C. Následuje lisování pomocí mechanických hydraulických košových lisů nebo kontinuálních sítopásových lisů či v lisovacích (dekantačních) odstředivkách. Následně jsou odstraněny kaly pomocí filtrace či centrifugace. [30]

Tato šťáva je stále matně kalná, proto může následovat čerení. Čerením se odstraňují hydrokoloidy, zejména pektin, škrob a hemicelulosa. Lze provést enzymaticky při teplotě 50–52 °C po dobu několika hodin, zbylé kaly se odstraní ultrafiltrací. Další možností je přidání látek tvořících sraženinu (tanin, želatina) nebo sorbentů (bentonit, silikagel), vyloučené sraženiny se oddělí filtrací či odstředěním. [30]

Následuje finální úprava nápoje konzervačním zákrokem a plnění do obalů, případné sycení CO₂. Kvalita je posuzována podle koncentrace rozpustné sušiny, původnost složení, obsah kyselin a kalů, barva a senzorické parametry. [30]

2.5.2 Mrkvová šťáva

Zpracování mrkvové šťávy je zaměřeno na převedení největšího množství dužiny do výrobku, z důvodu vysokého obsahu karotenoidů, minerálních látek a dalších nutričních látek. [31]

Nejprve jsou mrkve vyprány (v lopatkových bubnových nebo vibračních pračkách), protříděny, oloupany a ručně protříděny. Mrkve jsou vyprány tlakovou vodou a jsou nařezány na plátky (5–7 mm tlusté). Následuje blanšírování párou při teplotě 95–105 °C po dobu 10–15 minut. Dále se postupuje buďto drcením nebo pasírováním pomocí pasírovaček, kontinuálních extraktorů, koloidních mlýnků nebo centrifug se sítím, anebo lisováním na hydraulickém lise. Výlisky je možné pasírovat a smíchat s vylisovanou šťávou. Mrkvové šťávě je možno přidat cukrový roztok, kyselinu citronovou a askorbovou. Následuje homogenizace, deaerace, plnění do tmavých obalů za horka a sterilizace. [31]

Mrkev je známá zejména pro svůj vysoký obsah karotenoidů (obsah karotenů je 6 000–54 800 µg/100 g mrkve) a fenolických látek a vlákniny. Karotenoidy jsou přítomny intracelulárně a mají biologickou (antioxidační aktivita, β-karoten jako provitamin vitamínu A) a pigmentační funkci, zahrnují karoteny a xanthofyly. Fenolické látky mrkve jsou koncentrovány v kořenové části, zejména v druhotné kůře, nejvíce ve slupce, méně ve floému a nejméně v xylému, nejčastěji se jedná o kyselinu chlorogenovou. Vláknina je přítomná v buněčných stěnách buněk mrkve, jedná se o rozpustný pektin a nerozpustnou celulosu, lignin a hemicelulosy. [32]

Významnými vonnými látkami v mrkvi jsou myrcen, sabinen, terpinolen, β-karyofylen, γ-bisabolen, α-pinen, acetaldehyd, (2*E*,6*Z*)-nona-2,6-dienal (okurková vůně) a 2-*sek*-butyl-3-metohoxyprazin (zelená, hořkomandlová vůně). [11]

Nutriční složení mrkvové šťávy je uvedeno v tabulce 3. Data byla získána analýzou českého trhu (pět produktů vyrobených v České republice, Německu a na Slovensku) a jsou uvedena v příloze 3.

Tabulka 3 Nutriční složení mrkvové šťávy

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	32,20±4,35
	kJ/100 ml šťávy	135,80±17,86
Tuky	g/100 ml šťávy	0,19±0,16
z toho nasycené mastné kyseliny		0,09±0,07
Sacharidy		6,72±0,75
z toho cukry		6,62±0,86
Bílkoviny		1,06±0,38
Sůl		0,06±0,05

2.5.3 Jablečná šťáva

Význam konzumace jablek je zejména v obsahu makronutrientů a mikronutrientů, vlákniny, fenolických látek a antioxidantů. Více fenolických látek se vyskytuje ve slupce než ve dřeni, jedná se zejména o flavonoidů, kvercetin a jeho konjugáty (vyskytují se pouze ve slupce, žluté barvivo), katechiny, epikatechiny (katechiny a epikatechiny jsou hořké chuťové látky), anthokyany (ve slupce kyanidin-3-galaktosid, kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-xylosid, kyanidin-7-arabinosid a jejich acylované deriváty [11]), dihydrochalkony (florethin [11]), kyselinu gallovou a chlorogenovou (vyskytuje se více ve dřeni) a prokyanidiny. Při výrobě šťávy se v závislosti na použitém procesu a parametrech surovin a výsledného produktu může snížit obsah fenolických látek o alespoň 58 % a antioxidační aktivita o až 90 %. [33]

Anthokyany kopigmentují s deriváty kvercetinu, kamferolu a isorhamnetinu, výsledkem jsou žlutohnědé zákaly až sedimenty. [11]

Významnými vonnými látkami přítomnými v jablkách jsou kyselina 2-methylmásečná a 3-methylmásečná, ethyl-2-methylbutyrát (jahodová vůně), butylacetát (ananasová vůně), 2-methylbutylacetát, 3-methylbutylacetát, ethylbutyrát, ethyl-2-methylbutyrát, methyl-2-methylbutyrát, hexyl-2-methylbutyrát, ethylester kyseliny 5-hydroxyoktanové a 5-hydroxydekanové, hexanal, (zelené aroma), (2*E*)-hex-2-enal (zelené aroma), (3*Z*)-hex-3-en-1-ol (zelené aroma), (3*E*)-hex-2-en-1-ol (zelené aroma), hex-3-en-1-ylbutyrát (zelené aroma, jablečná vůně), butan-1-ol, hexan-1-ol, linalool (dřevitá nebo sladká levandulová vůně), 2-fenylethanol (růžová vůně), (*E*)- β -damasceon (jablečná vůně), 1-okten-3-on (houbové aroma, kovová chuť), methional (vůně vařených brambor), dimethyldisulfid (sirná vůně). [11]

Při hodnocení jablečných šťáv a moštů se nejvíce zohledňuje senzoričné hodnocení (40% podíl na celkovém hodnocení), obsah ovoce (30% podíl na celkovém hodnocení), zachování aromatických látek (20% podíl na celkovém hodnocení) a výskyt mykotoxinů (10% podíl na celkovém hodnocení). [34]

Při senzoričném hodnocení se hodnotí chuť a vůně typická pro jablka, typická brava nápoje a přítomnost pachutí. Aromatické látky (suma esterů a aromatický profil) byla stanovena pomocí mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) a plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií (GC/MS). Mykotoxin patulin (produkt plísně napadající jablka a hrušky) byl stanoven kapalinovou chromatografií ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC/MS/MS). [34]

Složení jablečné šťávy je uvedeno v tabulce 4.

Tabulka 4 Nutriční složení jablečné šťávy [6]

Složka	Jednotka	Obsah
Voda		88
Celkový dusík		0,01
Bílkoviny	g/100 g džusu	0,1
Tuky		0,1
Sacharidy		9,9
Energetická hodnota	kcal/100 g džusu	38
	kJ/100 g džusu	164
Celkové cukry		9,9
Glukosa		2,6
Fruktosa		6,3
Sacharosa	g/100 g džusu	1,1
Vláknina		stopová množství
Polynenasycené mastné kyseliny		0,1
Na		2
K		110
Ca		7
Mg		5
P		6
Fe	mg/100 g džusu	0,1
Cl		3
Vitamin B ₁ (thiamin)		0,01
Vitamin B ₂ (riboflavin)		0,01
Vitamin B ₃ (niacin)		0,1
Vitamin B ₆ (pyridoxin)		0,02
Folát	μg/100 g džusu	4
Vitamin B ₅ (kyselina pantothenová)	mg/100 g džusu	0,04
Vitamin H (biotin)	μg/100 g džusu	1
Vitamin C	mg/100 g džusu	14

2.5.4 Řepná šťáva

Důležitou biologicky aktivní látkou obsaženou v červené řepě je betanin za červené, odpovědný za červené zbarvení. Betanin je stabilní při pH 4–7, při zpracování řepy tedy není vhodné snížit pH pod 4,4 [31]. Jedná se o potravinářské barvivo (E162), používá se k barvení nápojů, marmelády, mléčných výrobků, zmrzlin, masných výrobků, naložené zeleniny, bonbónů a dalších potravin [35].

Způsob výroby řepné šťávy je obdobný jako u výroby mrkvové šťávy, přídavky kyseliny citronové a askorbové jsou ovšem nižší a takové, aby pH nekleslo pod 4,4. [31]

Červená řepa obsahuje barevné pigmenty skupiny betalainů, používají se jako potravinářská barviva a jsou důležité pro zdraví kardiovaskulárního systému [6]. Dělí se na červené betacyaniny (betanin představuje až 95 % betacyaninů, dále se vyskytují isobetanin, prebetanin, isoprebetanin a gomfrenin I [11]) a žluté betaxanthiny (vulgaxanthin I a II, kyselina betalainová [11]) [37]. Betalainy a anthokyany se nikdy nevyskytují ve stejné rostlině [37]. Červená řepa potom obsahuje též fenolické látky (145–242 mg/kg čerstvé červené řepy) a flavonoidů (90–116 mg/kg čerstvé červené řepy) [36].

Mezi významné vonné látky v červené řepě se řadí geosmin (zemitá vůně), pyridin, 4-methylpyridin, 2-*sek*-butyl-methoxypyrazin, 3-methylbutanal (zelená, hořkomandlová vůně), biacetyl (ostrá, dráždivá, máslová vůně a chuť), hexanal (lojovitá, zelená vůně), furan-2-karbaldehyd (příjemná vůně), benzaldehyd (hořkomandlová vůně), fenylacetaldehyd (hyacintová vůně), 2-methylpropan-1-ol a 3-methylbutan-1-ol. [11]

Nutriční složení řepné šťávy je uvedeno v tabulce 5. Data byla získána analýzou českého trhu (třech produktů vyrobených v České republice, Německu a Rakousku) a jsou uvedena v příloze 4.

Tabulka 5 Nutriční složení řepné šťávy

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	39,67±2,05
	kJ/100 ml šťávy	166,67±9,03
Tuky	g/100 ml šťávy	0,10±0,00
z toho nasycené mastné kyseliny		0,05±0,04
Sacharidy		8,40±0,57
z toho cukry		8,27±0,68
Bílkoviny		1,00±0,41
Sůl		0,10±0,07
Vláknina		0,10±0,00

2.5.5 Hrušková šťáva

Hrušky jsou oblíbeným ovocem a pro svoji chuť, nutriční složení a technologické vlastnosti je často využíváné k výrobě šťáv. Hlavními přednostmi je obsah fenolických látek (např. kyselina chlorogenová (2,7–14,1 mg/100 g), epikatechin (0,6–8,7 mg/100 g), katechin (0,05 mg/100 g) a arbutin) [38, 39]. Dalšími znaky je nižší kyselost ve srovnání s jinými druhy džusů a také přítomnost pektinů (dle přítomnosti a intenzity zákalu [40]). Přítomny jsou též anthokyany ve slupce (kyanidin-3-galaktosid, kyanidin-3-arabinosid, kyanidin-3-rutinosid, kyanidin-3-glukosid). Anthokyany kopigmentují s deriváty kvercetinu, kamferolu a isorhamnetinu, výsledkem jsou žlutohnědé zákaly až sedimenty [11].

Nutriční složení hruškové šťávy je uvedeno v tabulce 6. Data byla získána analýzou českého trhu (třech produktů vyrobených v České republice, Rakousku a na Slovensku) a jsou uvedena v příloze 5.

Tabulka 6 Nutriční složení hruškové šťávy

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	44,75±2,95
	kJ/100 ml šťávy	189,00±12,47
Tuky	g/100 ml šťávy	0,20±0,17
z toho nasycené mastné kyseliny		0,05±0,05
Sacharidy		11,00±0,79
z toho cukry		9,73±1,38
Bílkoviny		0,25±0,15
Sůl		0,02±0,02

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité standardy

Tato část je věnována standardům použitých pro kalibraci následujících metod. Všechny další chemikálie uvedené v následujících částech experimentální části byly použity v minimálně v čistotě p.a.

- D-glukosa monohydrát (p.a., Penta, Česko)
- (+)-katechin hydrát ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, Čína)
- Kyselina (\pm)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová (97%, Trolox, Sigma-Aldrich, Švýcarsko)
- Kyselina citronová monohydrát ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, Rakousko)
- Kyselina gallová monohydrát ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, Čína)
- Kyselina L-askorbová ($> 99\%$, Sigma-Aldrich, USA)
- Kyselina L-(+)-mléčná ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, Belgie)
- Kyselina octová (99,8%, p.a., Lach-ner, Česko)

3.2 Použité laboratorní pomůcky a přístroje

Běžné laboratorní sklo a vybavení

Automatické pipety a mikropipety

Stolní váhy OHAUS Scout

Přesné váhy OHAUS Pioneer

Stolní centrifuga Eppendorf MiniSpin

Homogenizátor OHAUS Fixed Speed Vortex Mixer

UV/Vis spektrofotometr VWR UV-1600PC

ELISA reader BioTek 800TS Absorbance Reader

Stolní pH metr XS Instruments pH 50+ DHS

HPLC sestava Thermo Scientific UltiMate 3000 HPLC vybavená manuálním dávkovacím ventilem Rheodyne a kolonou Rezex ROA Organics a DAD detektorem Thermo Scientific

Sterilní laminární box

Cytometr Cytex NL-2000

Centrifuga HERMLE Z 36 K

Stříkačkové filtry CHS FilterPure 13 mm, 0.45 μm , nylon

Kultivátor, lednice, mrazák, tlakový hrnec pro sterilizaci

3.3 Analyzované vzorky

3.3.1 Zelná šťáva

Pro účely senzoričké analýzy byla jako zelná šťáva použita čerstvá Tuřanská zelná šťáva, výrobcem je AGRO Brno-Tuřany, a. s. Produkt byl zakoupen v podnikové prodejně výrobce. Nutriční složení použitého produktu je patrné v tabulce 7.

Tabulka 7 Nutriční složení Tuřanské zelné šťávy

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	11
	kJ/100 ml šťávy	45
Tuky	g/100 ml šťávy	0,1
z toho nasycené mastné kyseliny		<0,1
Sacharidy		1,6
z toho cukry		1
Bílkoviny		0,3
Sůl		2



Obrázek 5 Tuřanská zelná šťáva

Pro kultivaci a další analýzy byla použita Tuřanská zelná šťáva pasterovaná. výrobcem je AGRO Brno-Tuřany, a. s. Produkt byl zakoupen v podnikové prodejně výrobce. Nutriční složení použitého produktu je stejné jako u čerstvé Tuřanské zelné šťávy, které je patrné v tabulce 7.



Obrázek 6 Tuřanská zelná šťáva pasterovaná

3.3.2 Jablečná šťáva

Jako vzorek jablečná šťávy byla použita Albert Čerstvá šťáva jablko, výrobcem je McCarter, a. s., prodejcem je Albert Česká republika, s. r. o. Nutriční složení použitého produktu je uvedeno v tabulce 8.

Tabulka 8 Nutriční složení Albert Čerstvá šťáva jablko

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	45
	kJ/100 ml šťávy	190
Tuky	g/100 ml šťávy	0,1
z toho nasycené mastné kyseliny		0
Sacharidy		11
z toho cukry		11
Bílkoviny		0,2
Sůl		0



Obrázek 7 Albert Čerstvá šťáva jablko.

3.3.3 Jablečno-řepná šťáva

Řepná šťáva byla zastoupena směsnou šťávou Albert Čerstvá šťáva jablko a řepa (obsahuje 60 % jablečné a 40 % řepné šťávy), výrobcem je McCarter, a. s., prodejcem je Albert Česká republika, s. r. o. Nutriční složení použitého produktu je uvedeno v tabulce 9.

Tabulka 9 Nutriční složení Albert Čerstvá šťáva jablko a řepa

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	43
	kJ/100 ml šťávy	180
Tuky	g/100 ml šťávy	0,1
z toho nasycené mastné kyseliny		0,1
Sacharidy		9,3
z toho cukry		9,3
Bílkoviny		0,1
Sůl		0,01



Obrázek 8 Albert Čerstvá šťáva jablko a řepa

3.3.4 Hrušková šťáva

Hrušková šťáva byla reprezentována Albert Čerstvá šťáva hruška, výrobcem je McCarter, a. s., prodejcem je Albert Česká republika, s. r. o. Nutriční složení použitého produktu je uvedeno v tabulce 10. Tento produkt byl použit pouze pro senzoričnou analýzu, z důvodu nedostupnosti na trhu byl nahrazen jinou hruškovou šťávou.

Tabulka 10 Nutriční složení Albert Čerstvá šťáva hruška

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	48
	kJ/100 ml šťávy	203
Tuky	g/100 ml šťávy	0,1
z toho nasycené mastné kyseliny		0
Sacharidy		12
z toho cukry		8,4
Bílkoviny		0,2
Sůl		0



Obrázek 9 Albert čerstvá šťáva hruška

Z důvodu nedostupnosti produktu byla použita jako náhrada Rio Cold Press 100% hruška, výrobcem je McCarter, a. s., prodejcem je Tesco Stores ČR, a. s. Nutriční složení použitého produktu je uvedeno v tabulce 11.

Tabulka 11 Nutriční složení Rio Cold Press 100% hruška

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	45
	kJ/100 ml šťávy	190
Tuky	g/100 ml šťávy	<0,5
z toho nasycené mastné kyseliny		<0,1
Sacharidy		11,2
z toho cukry		11,2
Bílkoviny		<0,5
Sůl		<0,01



Obrázek 10 Rio Cold Press 100% hruška

3.3.5 Mrkvová šťáva

Pro vzorek mrkvové šťávy byla použita Albert Čerstvá šťáva mrkev, výrobcem je McCarter, a. s., prodejcem je Albert Česká republika, s. r. o. Nutriční složení použitého produktu je uvedeno v tabulce 12.

Tabulka 12 Nutriční složení Albert Čerstvá šťáva mrkev

Složka	Jednotka	Obsah
Energetická hodnota	kcal/100 ml šťávy	29
	kJ/100 ml šťávy	124
Tuky	g/100 ml šťávy	0,1
z toho nasycené mastné kyseliny		0,02
Sacharidy		6,4
z toho cukry		6
Bílkoviny		0,7
Sůl		0,1



Obrázek 11 Albert Čerstvá šťáva mrkev

3.4 Výroba směsných ovocno-zeleninových šťáv

Zelná šťáva a další ovocné, zeleninové a ovocno-zeleninové šťávy byly smíchány v různých poměrech a složeních (tabulce 13).

Tabulka 13 Složení směsí šťáv

Zkratka	Složení (podíl)
J2	Jablečná šťáva (66,6 %), zelná šťáva (33,3 %)
J1	Jablečná šťáva (50 %), zelná šťáva (50 %)
R2	Jablečno-řepná šťáva (66,6 %, tj. 40 % jablečné a 26,6 % řepné šťávy), zelná šťáva (33,3 %)
R1	Jablečno-řepná šťáva (50 %, tj. 30 % jablečné a 20 % řepné šťávy), zelná šťáva (50 %)
H2	Hrušková šťáva (66,6 %), zelná šťáva (33,3 %)
H1	Hrušková šťáva (50 %), zelná šťáva (50 %)
M2	Mrkvová šťáva (66,6 %), zelná šťáva (33,3 %)
M1	Mrkvová šťáva (50 %), zelná šťáva (50 %)
JH	Jablečná šťáva (33,3 %), hrušková šťáva (33,3 %), zelná šťáva (33,3 %)
JM	Jablečná šťáva (33,3 %), mrkvová šťáva (33,3 %), zelná šťáva (33,3 %)
RH	Jablečno-řepná šťáva (33,3 %, tj. 20 % jablečné a 13,3 % řepné šťávy), hrušková šťáva (33,3 %), zelná šťáva (33,3 %)
RM	Jablečno-řepná šťáva (33,3 %, tj. 20 % jablečné a 13,3 % řepné šťávy), mrkvová šťáva (33,3 %), zelná šťáva (33,3 %)
HM	Hrušková šťáva (33,3 %), mrkvová šťáva (33,3 %), zelná šťáva (33,3 %)
JHM	Jablečná šťáva (25 %), hrušková šťáva (25 %), mrkvová šťáva (25 %), zelná šťáva (25 %)
RHM	Jablečno-řepná šťáva (25 %, tj. 15 % jablečné a 10 % řepné šťávy), hrušková šťáva (25 %), mrkvová šťáva (25 %), zelná šťáva (25 %)

Nutriční složení směsí šťáv použité pro senzoryckou analýzu je patrné v tabulce 14, bylo získané výpočtem za použití nutričního složení použitých šťáv. Tato data byla použita ke statistickému zpracování dat (korelační a parciálně korelační analýza, PCA a sestavení dendrogramu).

Tabulka 14 Nutriční složení šťáv pro senzoricou analýzu

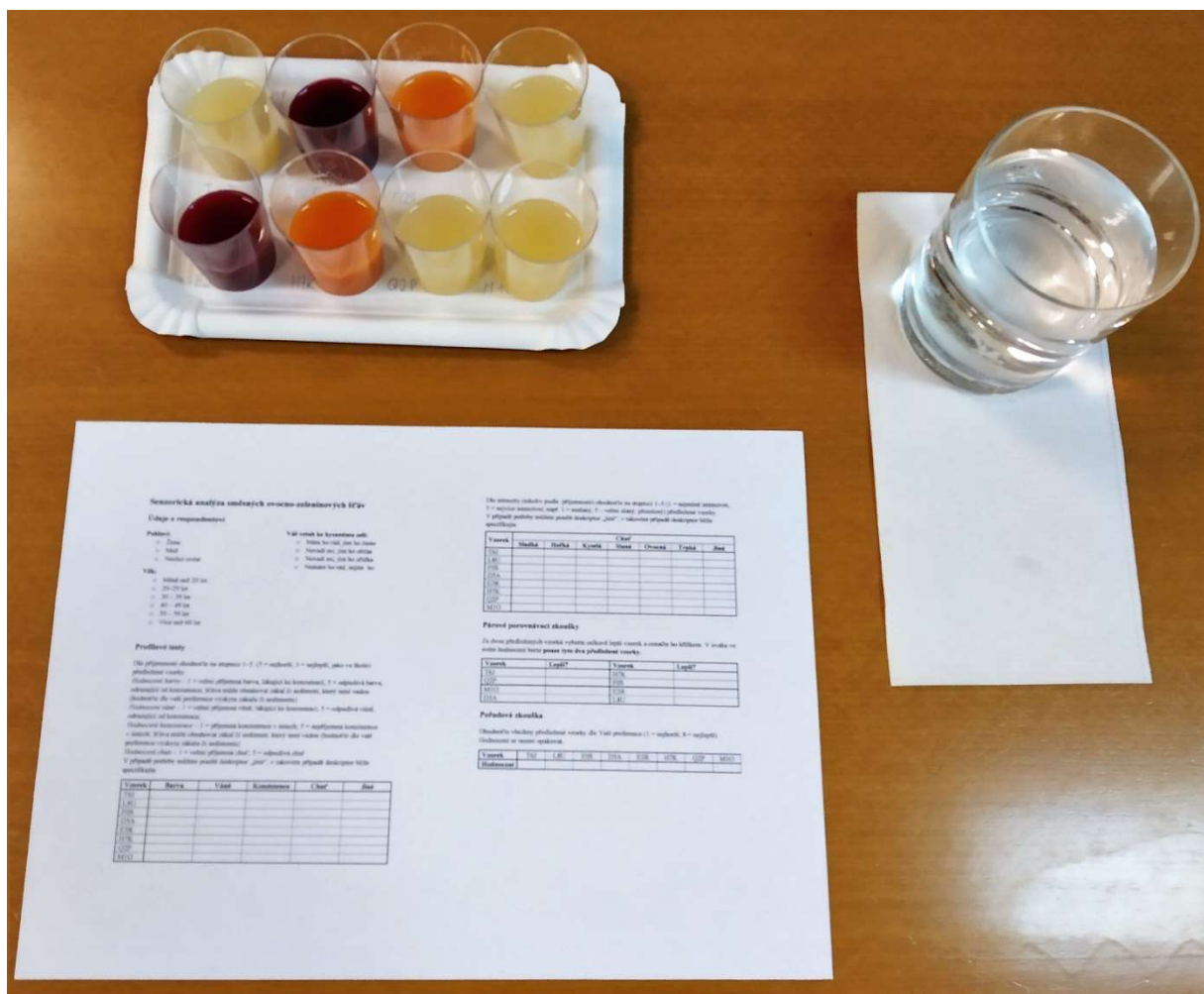
Vzorek	Energetická hodnota		Tuky (g/100 ml)	Nasycené mastné kyseliny (g/100 ml)	Sacharidy (g/100 ml)	Cukry (g/100 ml)	Bílkoviny (g/100 ml)	Sůl (g/100 ml)
	kcal/100 ml	kJ/100 ml						
J2	33,67	141,67	0,1	0,030	7,87	7,67	0,23	0,67
J1	28,00	117,50	0,1	0,050	6,30	6,00	0,25	1,00
R2	32,33	135,00	0,1	0,100	6,73	6,53	0,17	0,67
R1	27,00	112,50	0,1	0,100	5,45	5,15	0,20	1,01
H2	35,67	150,33	0,1	0,030	8,53	5,93	0,23	0,67
H1	29,50	124,00	0,1	0,050	6,80	4,70	0,25	1,00
M2	23,00	97,67	0,1	0,050	4,80	4,33	0,57	0,73
M1	20,00	84,50	0,1	0,060	4,00	3,50	0,50	1,05
JH	34,67	146,00	0,1	0,033	8,20	6,80	0,23	0,67
JM	28,33	119,67	0,1	0,040	6,33	6,00	0,40	0,70
RH	34,00	142,67	0,1	0,067	7,63	6,23	0,20	0,67
RM	27,67	116,33	0,1	0,073	5,77	5,43	0,37	0,70
HM	29,33	124,00	0,1	0,040	6,67	5,13	0,40	0,70
JHM	33,25	140,50	0,1	0,030	16,25	15,10	0,75	0,78
RHM	32,75	138,00	0,1	0,055	14,55	13,40	0,65	0,79

3.5 Senzorická analýza

Pro výběr spotřebitelsky atraktivní směsi šťáv pro následné obohacení přídavkem vybraného probiotika a pro další analýzy proběhlo nejdříve senzorické hodnocení.

3.5.1 Metody senzorické analýzy

Pro vysoký počet vzorků probíhala senzorická analýza ve dvou kolech. Hodnotitelé posuzovali předložené vzorky hedonicky (barva, konzistence, vůně, chuť) i dle intenzity (sladká, hořká, kyselá, slaná, ovocná a trpká chuť). Dále hodnotitelé porovnávali dvojice vzorků J2 a J1, R2 a R1, H2 a H1 a M2 a M1, a vybírali lepší vzorek (párová porovnávací zkouška dle normy ČSN ISO 5495 [41]). Nakonec hodnotitelé seřadili vzorky dle jejich přijatelnosti (pořadová zkouška dle normy ČSN ISO 8587 [42]). Ke vzorkům byla jako neutralizátor chuti podávána voda. Dotazníky byly k dispozici v českém a anglickém jazyce. Ukázka servírování vzorků je patrná na obrázku 12. Použité dotazníky jsou přiložené v přílohách 1 a 2.



Obrázek 12 Ukázka servírování vzorků pro senzorickou analýzu

3.6 Zaočkování média a vybraných ovocno-zeleninových šťáv

3.6.1 Použitá kultura *Lactobacillus plantarum*

K zaočkování média byla použita kultura *Lactobacillus plantarum* CCM 7039, získaná ze sbírky České sbírky mikroorganismů, Brno, ČR.

3.6.2 Příprava kultury

Dle pokynů výrobce bylo připraveno médium MRS broth. Sterilní médium bylo přelito do sterilních 50ml centrifugačních zkumavek. Médium bylo zaočkováno kulturou *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 a bylo ponecháno ke kultivaci při 37 °C po dobu 18 hodin. Pomocí cytometru byl ověřen počet živých buněk. Kultura byla šetrně zcentrifugována, médium bylo slito a nahrazeno sterilní vodou a kultura byla zředěna na koncentraci cca $1 \cdot 10^6$ CFU/ml.

3.6.3 Inokulace vzorků ovocno-zeleninových šťáv

Do 15 ml vzorků šťáv byl přidán 1 ml kultury *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 ve sterilní vodě o koncentraci $1 \cdot 10^6$ CFU/ml. Zaočkované vzorky byly v duplikátech. Vzorky byly uchovávány v lednici při 8 °C po dobu 30 dní (dny odběru jsou znázorněny v tabulce 15). Souběžně bylo uchováváno 5 setů vzorků nezaočkovaných kulturou jako negativní kontrola. Po uplynutí dané doby byly vzorky ihned analyzovány, popř. byly zamrazeny.

Tabulka 15 Doba skladování vzorků

Označení vzorku	Doba skladování (dny)
0	0
1	7
2	14
3	19
4	22
5	27
6	30

3.7 Spektrofotometrické metody

Vzorky byly před samotným měřením vhodně naředěny destilovanou vodou a byly centrifugovány (13 000 rpm po dobu 2 minut). Supernatant byl následně použit pro dílčí analytická stanovení.

3.7.1 Stanovení antioxidační aktivity

Roztok ABTS byl rozpuštěn v destilované vodě na koncentraci 7 mmol/l. Reakcí s 2,45 mmol/l vznikl radikálový aniont $\text{ABTS}^{\bullet+}$, který byl ponechán alespoň 12 hodin ve tmě. [43]

Před samotným stanovením byl roztok $\text{ABTS}^{\bullet+}$ zředěn ethanolem pro UV stanovení na přibližnou absorbanci 0,7 při vlnové délce 734 nm oproti ethanolu pro UV stanovení. Do mikrozkušavky bylo napipetováno 10 μl destilované vody a 1 ml roztoku $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Tato směs byla převedena do zúžené kyvety a ihned byla změřena absorbance v čase t_0 . Do mikrozkušavky bylo napipetováno 10 μl vzorku a 1 ml roztoku $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Tyto směsi obsahující vzorek byly ponechány 10 minut ve tmě a následně byla zaznamenána absorbance v čase t_{10} . Odečtem hodnoty t_{10} od hodnoty t_0 byla získána hodnota poklesu absorbance. [43]

Antioxidační aktivita byla vypočtena pomocí rovnice kalibrační křivky z kalibrační řady Troloxu v 60% ethanolu pro UV stanovení (40–400 $\mu\text{g/ml}$). [43]

3.7.2 Stanovení celkových polyfenolů

Do zkumavky byl napipetován 1 ml 10krát zředěného Follin-Ciocaltautova činidla, 1 ml destilované vody a 50 μl vzorku. Roztok byl promíchán a ponechán 5 minut stát při laboratorní teplotě. Poté byl do zkumavky přidán 1 ml nasyceného roztoku Na_2CO_3 . Roztok byl opět promíchán a ponechán 15 minut stát při laboratorní teplotě. Byla změřena absorbance při vlnové délce 750 nm oproti blanku. [44]

Koncentrace celkových polyfenolů byla vypočtena pomocí rovnice kalibrační křivky z kalibrační řady kyseliny gallové (0,1–0,7 mg/ml). [44]

3.7.3 Stanovení celkových flavonoidů

Do zkumavky bylo napipetováno 0,5 ml vzorku, 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml 5% roztoku NaNO_2 . Obsah zkumavky byl promíchán a ponechán 5 minut stát při laboratorní teplotě. K roztoku bylo přidáno 0,2 ml 10% roztoku AlCl_3 , roztok byl znovu promíchán a ponechán 5 minut stát. Poté bylo přidáno 1,5 ml 5% roztoku NaOH a 1 ml destilované vody. Roztok byl ponechán 15 minut stát při laboratorní teplotě a následně byla změřena absorbance při vlnové délce 510 nm oproti blanku. [45]

Koncentrace celkových flavonoidů byla vypočtena pomocí rovnice kalibrační křivky z kalibrační řady katechinu v ethanolu pro UV stanovení (0,05–0,3 mg/ml). [45]

3.7.4 Stanovení celkových sacharidů dle Dubois

K 1 ml vzorku bylo do zkumavky v digestoři přidáno 1 ml 5% roztoku fenolu a pomalu a postupně 5 ml koncentrované H_2SO_4 . Zkumavka byla promíchána a po 30 minutách byla změřena absorbance při vlnové délce 490 nm oproti blanku. [46]

Koncentrace celkových sacharidů byla vypočtena pomocí rovnice kalibrační křivky z kalibrační řady glukosy (0,02–0,1 mg/ml).

3.7.5 Stanovení redukujících cukrů dle Somogiy-Nelsona

K 1 ml vzorku bylo do zkumavky přidáno 0,5 ml Somogiy-Nelsonova činidla I a 0,5 ml Somogiy-Nelsonova činidla II. Roztok byl na 10 minut vložen do vroucí vodní lázně a následně byl vodou ochlazen na laboratorní teplotu. K chladnému roztoku bylo přidáno 0,5 ml Somogiy-Nelsonova činidla III. Vyloučený Cu_2O byl rozpuštěn vortexováním a reakční směs byla doplněna destilovanou vodou na celkový objem 10 ml. Následně byla změřena absorbance při vlnové délce 720 nm oproti blanku. [46, 47]

Koncentrace redukujících cukrů byla vypočtena pomocí rovnice kalibrační křivky z kalibrační řady glukosy (0,002–0,01 mg/ml).

Somogiy-Nelsonovo činidlo I bylo připraveno smícháním roztoku vzniklého rozpuštěním 12 g Na_2CO_3 , 8 g NaHCO_3 a 6 g vianu sodno-draselného ve 100 ml destilované vody a roztoku vzniklého rozpuštěním 72 g Na_2SO_4 v 300 ml destilované vody. [46, 47]

Somogiy-Nelsonovo činidlo II bylo připraveno rozpuštěním 4 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a 24 g Na_2SO_4 ve 200 ml destilované vody. [46, 47]

Somogiy-Nelsonovo činidlo III bylo připraveno smícháním roztoku vzniklého rozpuštěním 25 g molybdenanu amonného ve 450 ml destilované vody a okyseleného 21 ml koncentrované H_2SO_4 a roztok vzniklého rozpuštěním 3 g $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ v 25 ml destilované vody. Smíchané roztoky byly ponechány 48 hodin v temnu. [46, 47]

3.8 Stanovení analytů pomocí HPLC

3.8.1 Příprava vzorků pro HPLC

Před samotnou analýzou pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie byly vzorky vyčiřeny pomocí Carrezových činidel. K 0,1 ml vzorku bylo do mikrozkušavky přidáno 9,9 ml mobilní fáze (5 mmol H_2SO_4) a 0,5 ml Carrezova činidla I. Směs byla promíchána a pomalu bylo přidáno 0,5 ml Carrezova činidla II. Poté byla směs centrifugována při 4 500 rpm po dobu 5 min.

Zcentrifugovaný vzorek byl zfiltrován pomocí injekčního filtru (CHS FilterPure 13 mm, 0,45 μm , nylon).

Carrezovo činidlo I bylo připraveno rozpuštěním 54,75 g dihydrátu octanu zinečnatého v 250 ml destilované vody okyselené 7,5 ml 99,8% kyseliny octové.

Carrezovo činidlo II bylo připraveno rozpuštěním 26,5 g $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ v 250 ml destilované vody.

3.8.2 Metoda HPLC

Vyčěrené vzorky byly analyzovány za použití metody blíže popsané v tabulce 16. Pro sestavení kalibračních křivek byly použity standardy kyseliny citronové, askorbové, mléčné a octové o koncentraci 0,5–2 mg/ml. Data byla zpracována pomocí Softwaru Chromeleon Studio.

Tabulka 16 Parametry HPLC metody

Kolona	Rezex ROA Organics
Mobilní fáze	5 mmol H ₂ SO ₄
Objem nástřiku	20 µl
Průtok	0,6 ml/min
Teplota termostatu kolony	30 °C
Snímaná vlnová délka	210, 254, 267 nm

3.9 Stanovení počtu viabilních buněk pomocí spektrálního průtokového cytometru

Vzorky byly důkladně protřepány a stokrát naředěny sterilní vodou do mikrozkušavek. Do mikrozkušavek byly přidány 3 µl fluorescenčního činidla propidium jodidu (1 mg/ml). Vzorky byly protřepány a byly ponechány po dobu 10 minut ve tmě. Vzorky byly ihned měřeny na cytometru. Výsledky byly odečítány ze Side Scatter kanálu B6-A (snímající vlnovou délku 615 nm).

3.9.1 Kultivační test

Životaschopnost probiotické kultury byla po ukončení experimentu ověřena kultivačním testem.

Do sterilní 96jamkové kultivační destičky bylo napipetováno 270 µl média MRS a 30 µl vzorku (pro účely kultivačního testu byl použit vzorek skladování 32 dnů). Pomocí ELISA readeru byla proměřena absorbance při 600 a 630 nm při 37 °C. Destička byla inkubována 24 hodin při 37 °C. Po uplynutí inkubační doby byla znovu změřena absorbance.

3.10 Stanovení pH

Hodnoty pH byly stanoveny za použití pH metru. pH metr byl před měřením kalibrován pomocí kalibračních roztoků.

3.11 Statistické zpracování dat

Data byla zpracována v programech Microsoft Office Excel a TIBCO Statistica. Hladina spolehlivosti byla nastavena u všech testů 95 %.

3.11.1 Statistické zpracování dat senzorické analýzy

Hodnoty z obou datasetů byly upraveny tak, aby bylo možné použít společnou stupnici. Dále byly z důvodu neodbornosti panelu hodnotitelů na základě Grubbsova testu vyloučeny odlehlé hodnoty.

3.11.1.1 Profilový a pořadový test

Nejprve byl proveden Shapiro-Wilkův test normality. Na základě výsledků testu normality byla provedena neparametrická Kruskal-Wallisova ANOVA (analysis of variance, analýza rozptylu). Výsledky byly znázorněny pomocí krabicových grafů. Z průměrných hodnot byl také sestaven senzorický profil vzorků.

Doplňkově byla provedena jednoduchá i parciální korelační analýza. Za použití průměrných hodnot byl sestaven dendrogram a PCA graf.

3.11.1.2 Pořadový test

Vyhodnocení probíhalo v souladu s normou ČSN ISO 8587 [42]. Oba datasety byly analyzovány zvlášť, z výsledků byly vyloučeny odlehlé hodnoty (na základě Grubbsova testu). Kritické hodnoty Friedmanova koeficientu byla stanoveny podle normy ČSN ISO 8587 [42]. K hodnocení dat byla použita neparametrická Friedmanova ANOVA. Výsledky byly znázorněny pomocí krabicových grafů.

3.11.1.3 Párová porovnávací zkouška

Nejprve byla prověřena normální distribuce pomocí Shapiro-Wilkova testu, poté byl proveden párový T-test.

Zvlášť byly výsledky porovnány podle postupu v normě ČSN ISO 5495 [41].

3.11.1.4 Demografický profil hodnotitelů

Pomocí výsečových grafů byla znázorněna demografie hodnotitelů. Hodnotitelé byly dotázáni na jejich věk, pohlaví, vztah ke kysanému zelí a národnost (dotazníky byly k dispozici v českém a anglickém jazyce).

V rámci výše uvedené parciální korelační analýzy bylo také zjištěno, které faktory nejvíce ovlivňovaly hodnocení.

4 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

V rámci této diplomové práce byly řešeny následující cíle:

- 1) rešerše – technologie výroby kysaného zelí, mléčná fermentace, složení nálevu
- 2) charakterizace hlavních složek nálevu (probiotika, biologicky aktivní látky)
- 3) vývoj směsných ovocno-zeleninových šťáv na bázi nálevu z kysaného zelí, jejich charakterizace a stabilizace
- 4) senzorická a nutriční analýza směsných šťáv

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Cílem experimentální části práce bylo navrhnout spotřebitelsky přijatelné směsné ovocno-zeleninové šťávy s obsahem zelné šťávy. Na základě senzoričké analýzy byly vybrány spotřebitelsky nejpřijatelnější směsi šťáv, které byly následně obohaceny probiotickou kulturou *Lactobacillus plantarum*. U obohacených i neobohacených vzorků byla provedena nutriční analýza a analýza bioaktivních látek, sledována byla také stabilita (tedy změny nutričního složení, obsahu bioaktivních látek a koncentrace probiotických buněk) během skladování při 8 °C po dobu 30 dnů.

V rámci charakterizace směsných šťáv a sledování stability byly stanoveny parametry: pH, koncentrace probiotických buněk, antioxidační aktivita, celkové flavonoidů a polyfenoly, celkové a redukující ve vodě rozpustné sacharidy, kyselina L-askorbová a kyselina mléčná. V závěru byla ověřena viabilita probiotik pomocí kultivačního testu.

5.1 Senzorická analýza

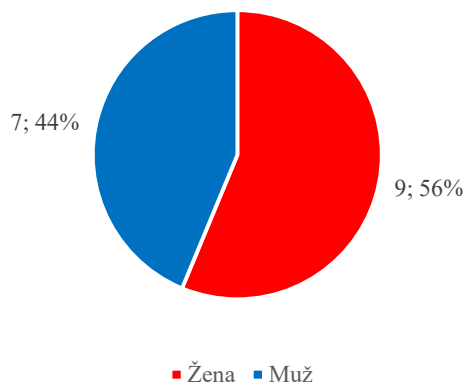
Hlavním cílem senzoričké analýzy bylo na základě preferencí hodnotitelů vybrat spotřebitelsky nejpřijatelnější směsi šťáv pro další analýzu. Ze získaných dat bylo dále možné sledovat rozhodování hodnotitelů a významnost jednotlivých parametrů. Data ze senzoričké analýzy byly také srovnána s nutričním složením výrobků (získaných z etiket, tabulka 14).

Pro další experimenty byly vybrány dva nejlepší (podle hodnocení) vzorky z první senzoričké analýzy (R2 a J2) a dva vzorky z druhé (RH a JHM).

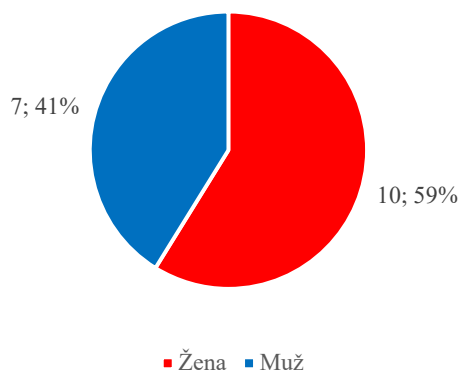
5.1.1 Demografický profil hodnotitelů

První senzoričké analýzy konané 26. listopadu 2022 se zúčastnilo celkem 16 hodnotitelů převážně z řad studentů a zaměstnanců Fakulty chemické Vysokého učení technického v Brně. Tři hodnotitelé nebyli z prostředí Fakulty chemické, tři hodnotitelé byli cizinci (dotazník byl k dispozici i v anglickém jazyce). Druhá senzoričká analýza se konala 2. prosince 2022, zúčastnilo se jí 17 hodnotitelů převážně z řad studentů a zaměstnanců Fakulty chemické Vysokého učení technického v Brně. Tři hodnotitelé nebyli z Fakulty chemické, jeden hodnotitel byl cizinec. Všichni hodnotitelé byli stručně seznámeni se základy senzoričkého hodnocení. Demografické složení hodnotitelů je patrné na obrázcích 13, 14 a 15.

První sensorická analýza

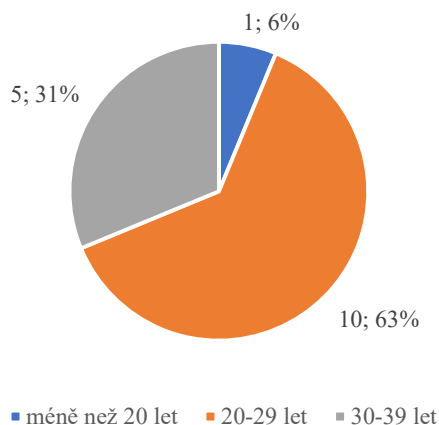


Druhá sensorická analýza

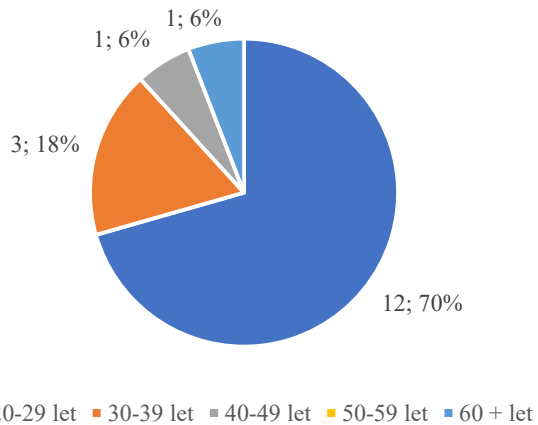


Obrázek 13 Složení hodnotitelů (dle pohlaví)

První sensorická analýza

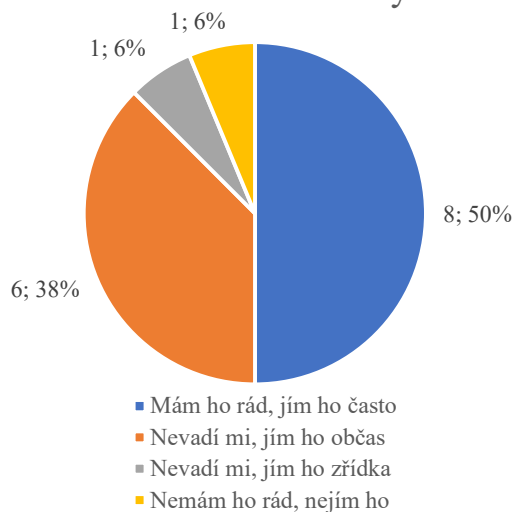


Druhá sensorická analýza

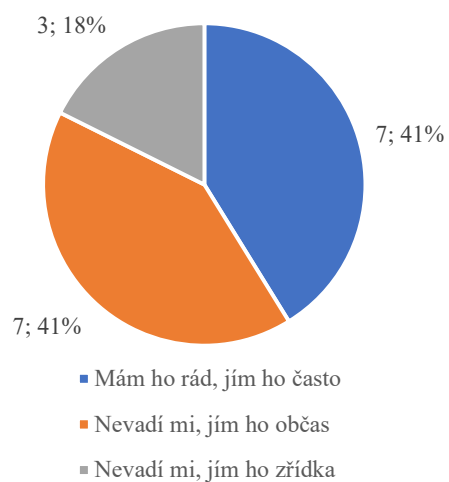


Obrázek 14 Složení hodnotitelů (dle věku)

První sensorická analýza



Druhá sensorická analýza

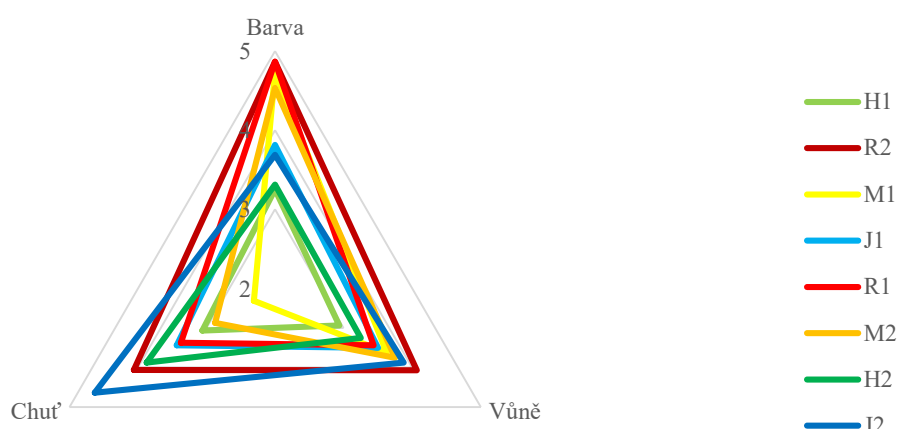


Obrázek 15 Složení hodnotitelů (dle vztahu ke kysanému zelí)

5.1.2 Senzorické profily

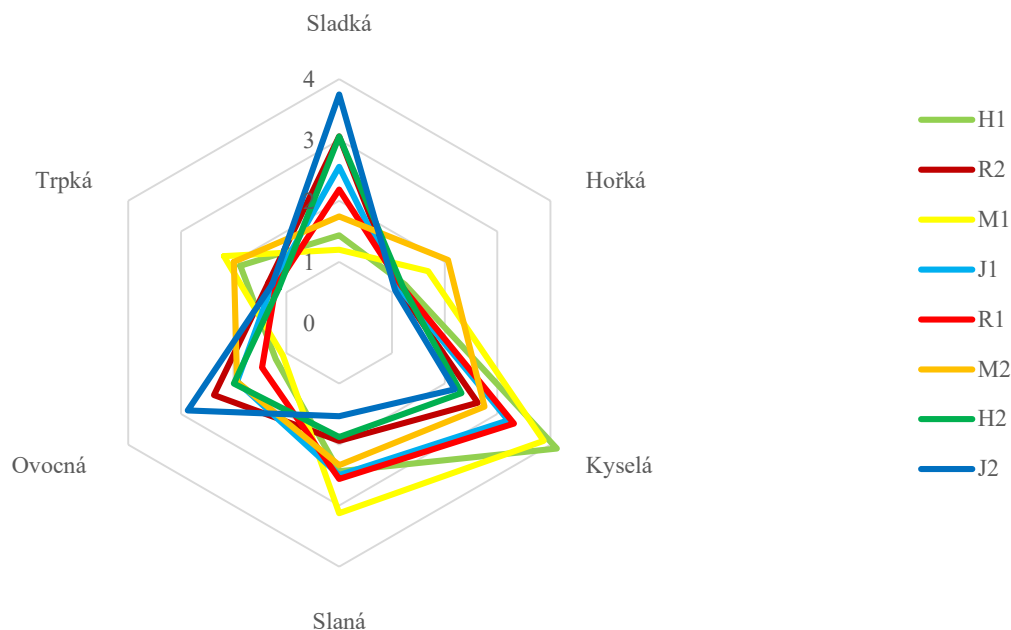
Na základě upravených dat ze sensorické analýzy byly sestaveny sensorické a chuťové profily vzorků. Profily byly znázorněny pomocí paprskových grafů, k sestavení byly použity průměrné hodnoty. Pro přehlednost byly zpracovány data z obou sensorických analýz zvlášť, také byl rozlišen sensorický (barva, vůně, chuť) a chuťový (sladká, hořká, kyselá, slaná, ovocná a trpká chuť) profil.

Na obrázku 16 je patrný sensorický profil dvousložkových směsí džusů z první sensorické analýzy. Patrné jsou rozdíly mezi vzorky hlavně u deskriptorů barva a chuť. Hodnotitelé udělovali více bodů červeným (R2 a R1) a oranžovým (M2 a M1) vzorkům než žlutým vzorkům (J2, J1, H2 a H1). Co se týče chuti, hodnotitelé preferovali vzorky s vyšším podílem přidané ovocné šťávy (J2, R2 a H2) oproti vzorkům s menším podílem ovocné šťávy (J1, R1 a H1) nebo pouze se zeleninovou šťávou (M2 a M1).



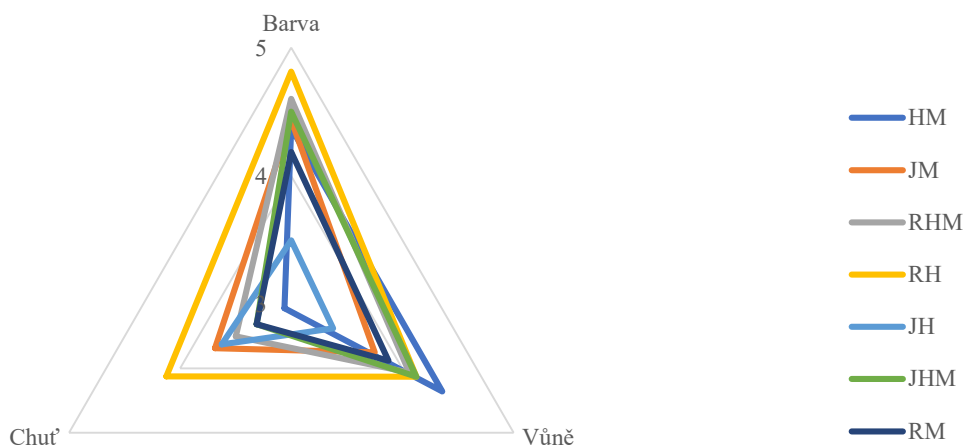
Obrázek 16 Sensorický profil vzorků první sensorické analýzy (pouze dvousložkové směsi), hodnoceno hedonicky (dle příjemnosti: 1 = nepříjemný, odpudivý; 5 = atraktivní, přitažlivý)

Chuťový profil dvousložkových směsí džusů je znázorněn na obrázku 17. Rozdíly jsou patrné zejména u sladké a kyselé chuti. Kyslejší byly vzorky s větším podílem zelné šťávy (H1, M1, R1 a J1), které byly zároveň se vzorkem M2 méně sladké.



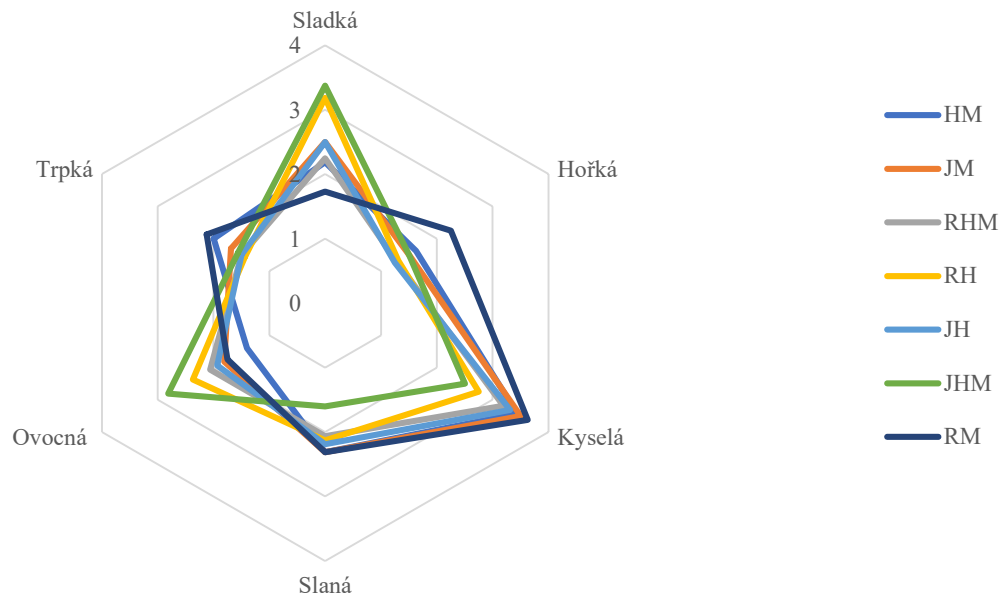
Obrázek 17 Chuťový profil vzorků první sensorické analýzy (pouze dvousložkové směsi), hodnoceno dle intenzity (1 = slabý vjem, 5 = silný vjem)

U vícesložkových směsí (obrázek 18) se u barvy opakuje situace ze sensorické analýzy dvousložkových směsí (obrázek 16): byly preferovány červené (RH a RHM) a oranžové (JM, HM a JHM) vzorky oproti vzorkům žlutému vzorku (JH). Zvláštním případem je RM, kdy vyšší podíl mrkvové šťávy, které výrazně sedimentovala, vytvářel méně atraktivní vzhled. Co se týče chuti a vůně, hodnotitelé neshledali tak velké rozdíly jako u dvousložkových směsí (obrázek 16).



Obrázek 18 Sensorický profil vzorků druhé sensorické analýzy (vícesložkové směsi), hodnoceno hedonicky (dle příjemnosti: 1 = nepříjemný, odpudivý; 5 = atraktivní, přitažlivý)

Obrázek 19 znázorňuje chuťový profil vícesložkových směsí vzorků. Největší rozdíly jsou ve sladké, kyselé a ovocné chuti. Nejvíce sladce a ovocně a nejméně kyselé byly hodnoceny vzorky RH a JHM, naopak jako nejméně sladký a nejvíce kyselý vzorek byl vybrán RM a jako nejméně ovocný vzorek HM.



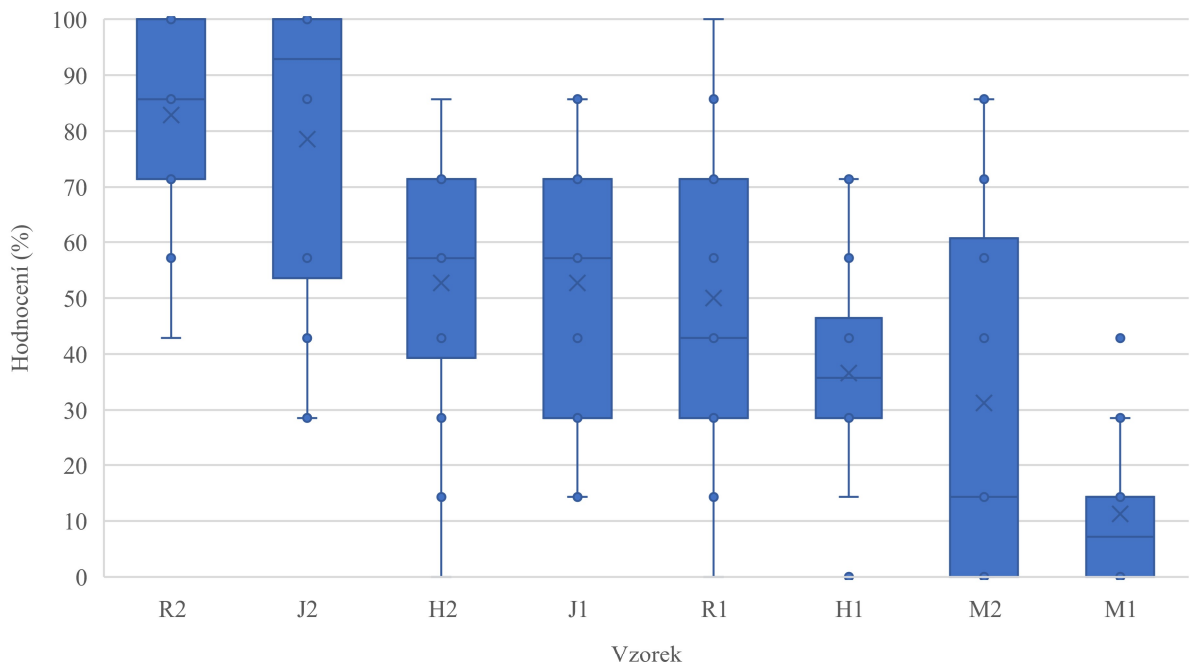
Obrázek 19 Chuťový profil vzorků druhé sensorické analýzy (vícesložkové směsi), hodnoceno dle intenzity (1 = slabý vjem, 5 = silný vjem)

5.1.3 Profilový a pořadový test

Provedením testu Kruskal-Wallisova ANOVA bylo určeno, že vzorky se od sebe signifikantně ($p = 0,05$) liší ve všech parametrech kromě vůně, trpké, hořké a slané chuti. Odlišnosti vzorků v jiných parametrech byly znázorněny pomocí krabicových grafů.

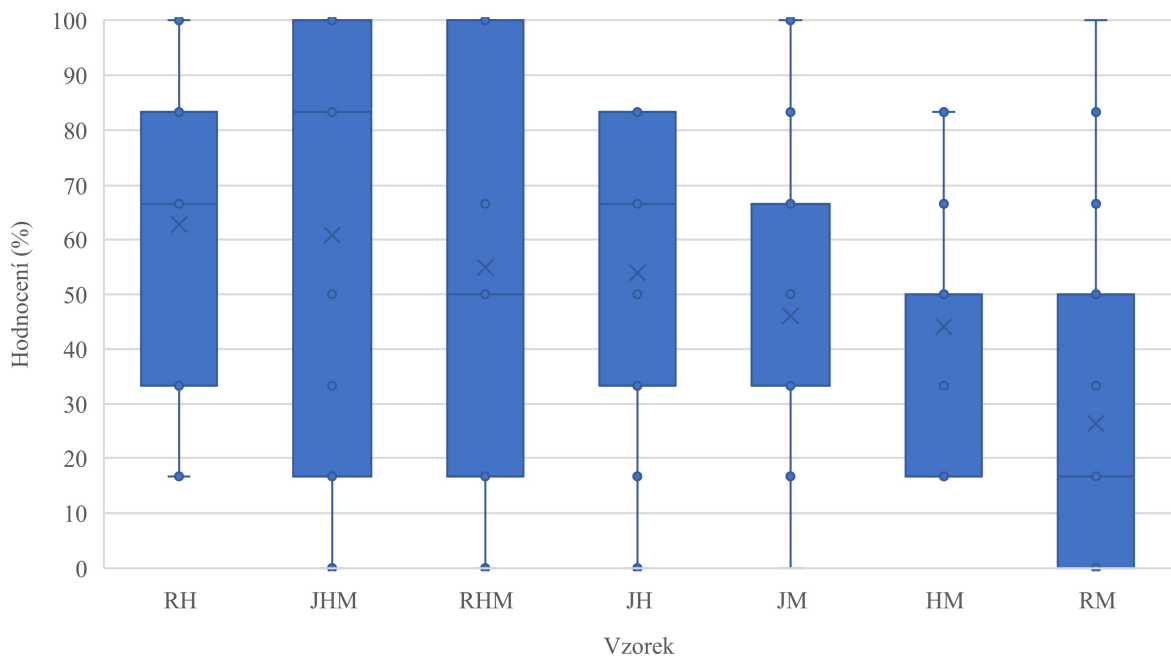
Pomocí postupu normy ISO 8587 [42] a testu Friedmanova ANOVA bylo zjištěno, že mezi vzorky jsou signifikantní ($p = 0,05$) shodné rozdíly u obou sad dat. Při hodnocení je třeba brát v potaz, že hodnotitelů bylo méně, než vyžaduje norma ISO 8587 (norma při spotřebitelských testech přijatelnosti vyžaduje alespoň 60 hodnotitelů) [42].

Na obrázku 20 je patrné, že lépe byly hodnoceny vzorky s vyšším obsahem ovocných šťáv. Výjimkami je směs s mrkvovou šťávou, která propadla hodnocením. K dalším experimentům byly vybrány vzorky R2 a J2.



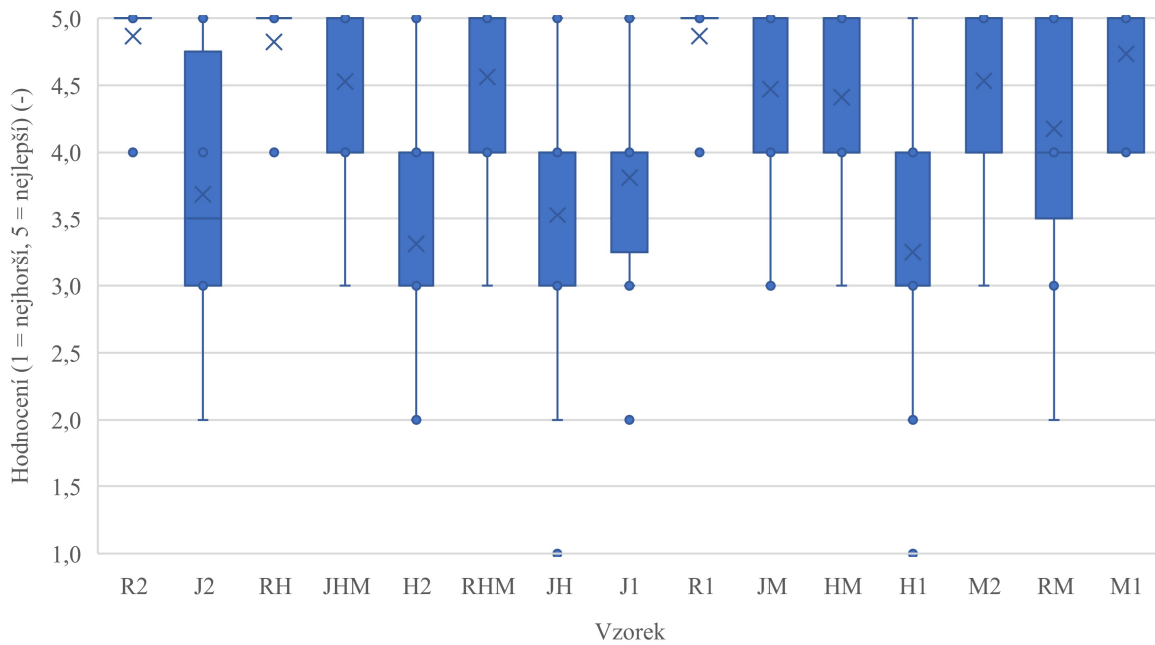
Obrázek 20 Celkové hodnocení vzorků (dvousložkové směsi)

U vzorků z druhé senzoričké analýzy byly patrné menší rozdíly mezi vzorky, jak je patrné na obrázku 21. K dalším experimentům byly na základě hodnocení vybrány vzorky RH a JHM.

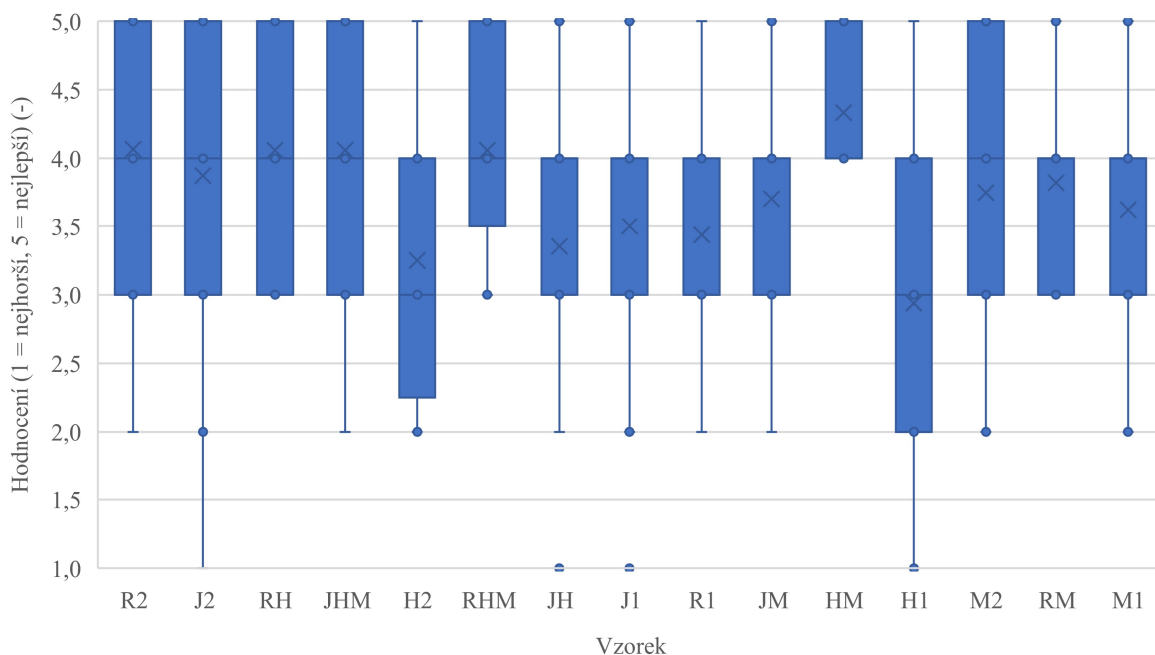


Obrázek 21 Celkové hodnocení vzorků (vícesložkové směsi)

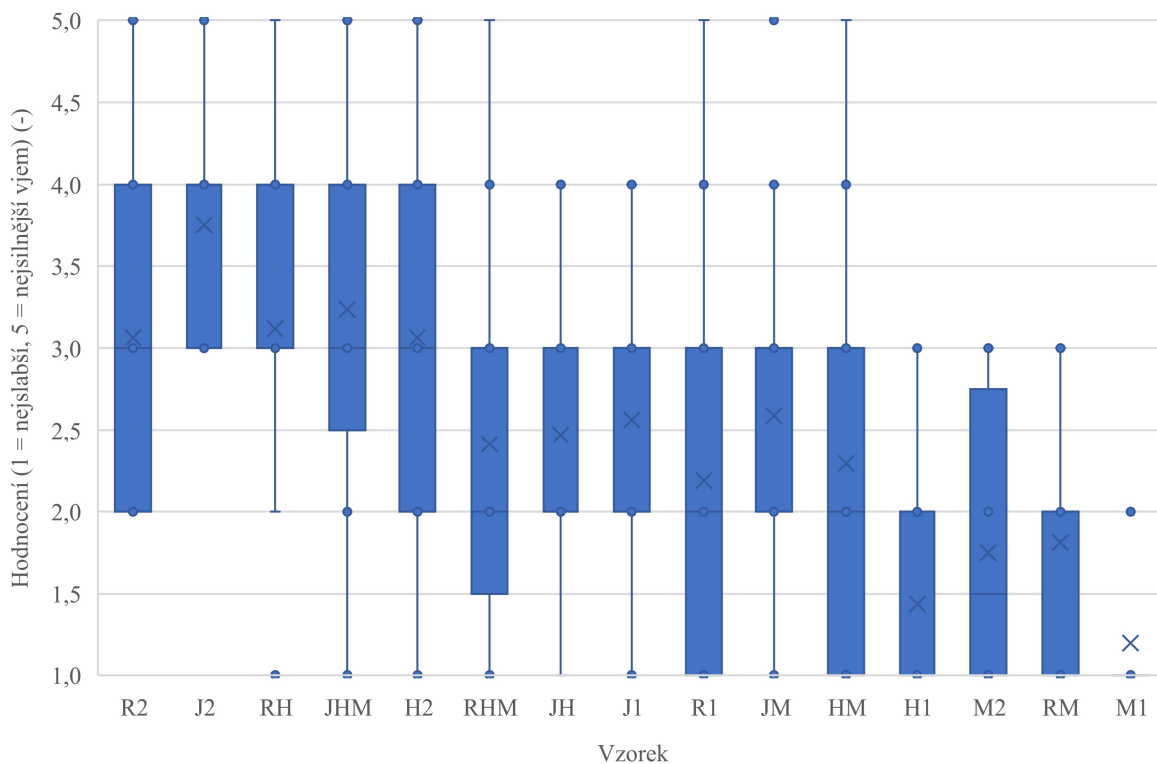
V následujících grafech jsou patrné odlišnosti vzorků v případě deskriptorů barva, chuť, sladká, kyselá a ovocná chuť. Obrázek 22 znázorňuje hodnocení barvy vzorků a shoduje se se senzoryckými profily na obrázcích 16 a 18: oblíbenější byly vzorky červené barvy (R2, RH a R1), méně pak oranžové (JHM, JM, HM, M2 a M1), případně se sedimentem (RHM a RM), nejméně pak žluté vzorky (J2, H2, JH, J1 a H1). Hodnocení chuti (obrázek 23), sladkosti (obrázek 24), kyselosti (obrázek 25) a ovocné chuti (obrázek 26) sledují podobný trend jako celkové hodnocení: lze říci, že lépe hodnocen byl vzorek se sladší a ovocnější a méně kyselou chutí.



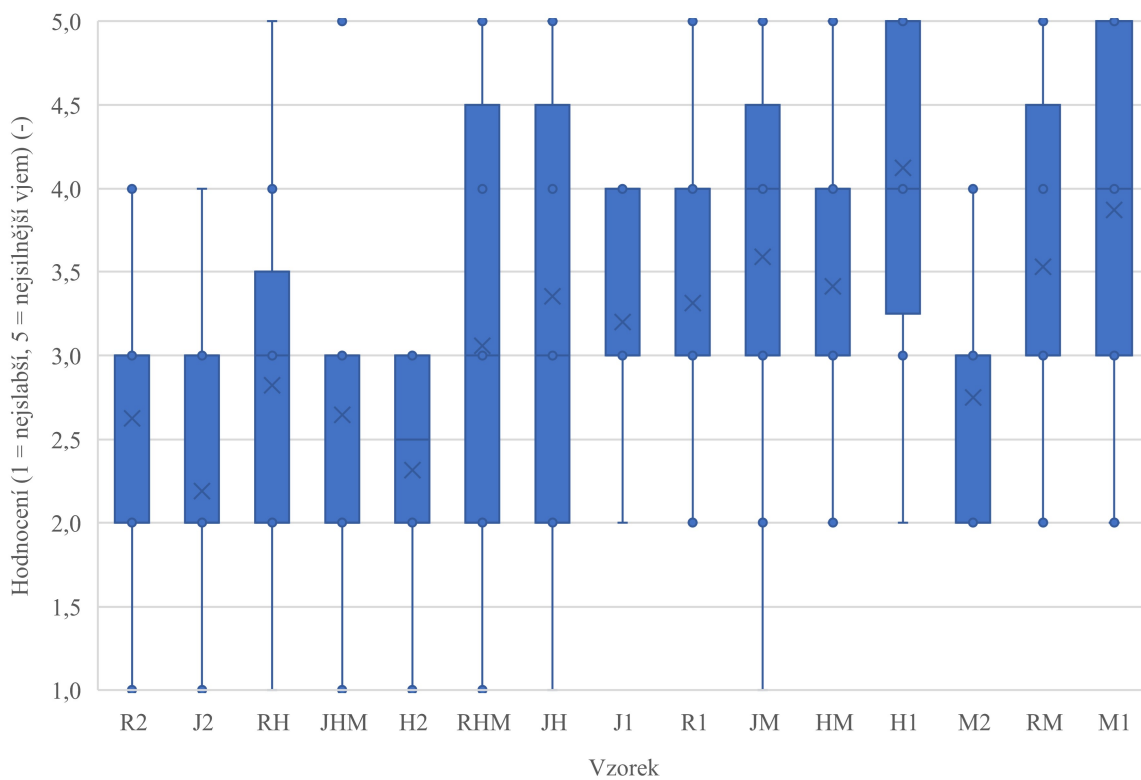
Obrázek 22 Hodnocení barvy vzorků



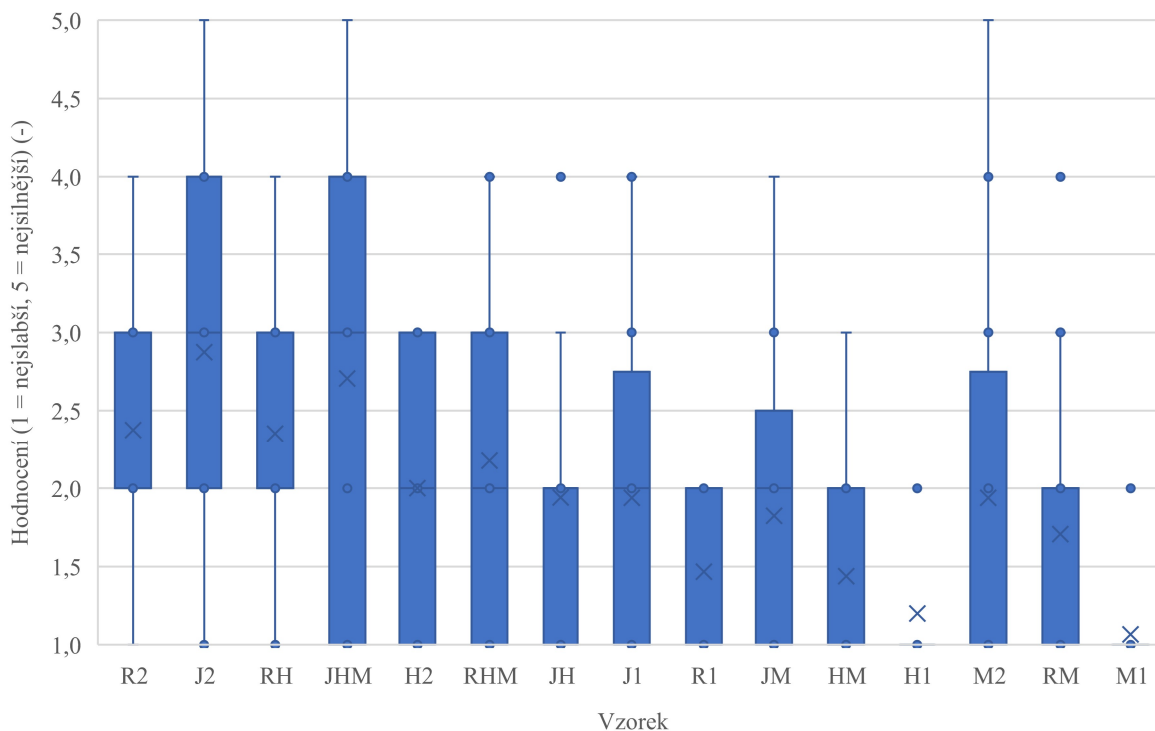
Obrázek 23 Hodnocení chuti vzorků



Obrázek 24 Hodnocení sladké chuti vzorků



Obrázek 25 Hodnocení kyselé chuti vzorků



Obrázek 26 Hodnocení ovocné chuti vzorků

5.1.4 Korelace a parciální korelace sensorických deskriptorů a nutričního složení směsí šťáv

Pro zjištění vzájemného ovlivňování parametrů sensorického hodnocení a nutričního složení (hodnoty byly získané z obalů výrobků a přepočtené dle obsahu jednotlivých šťáv) byla provedena korelační analýza. Její výsledky jsou znázorněny v tabulce 17, zvláště významné (větší než 0,3) byly vyznačeny tučně. Obzvláště významně souvisela barva a vůně, chuť se sladkostí, kyselostí, slaností, ovocná chuť s obsahem solí a hodnocením, sladkost s kyselostí, ovocnou chutí, obsahem sacharidů, cukrů a solí a hodnocením, hořkost s trpkostí, kyselost s trpkostí, obsahem solí a hodnocením.

V posledním řádku jsou uvedeny parametry, které nejvíce ovlivnily hodnocení uživatelů. Velký pozitivní vliv měla zejména chuť, sladkost a ovocná chuť, negativní pak kyselost.

Vzájemný vliv mezi dvěma parametry byl zjištěn pomocí parciální korelační analýzy, uvedené v tabulce 18. Zvláště významná byla zjištěna parciální korelace mezi chutí a hodnocením a mezi sladkostí a ovocnou chutí.

Tabulka 17 Korelační analýza. Uvedeny jsou signifikantně významné ($p = 0,05$) korelace, negativní jsou vyznačeny červeně, pozitivní zeleně. Obzvláště významné korelace jsou zvýrazněny tučně

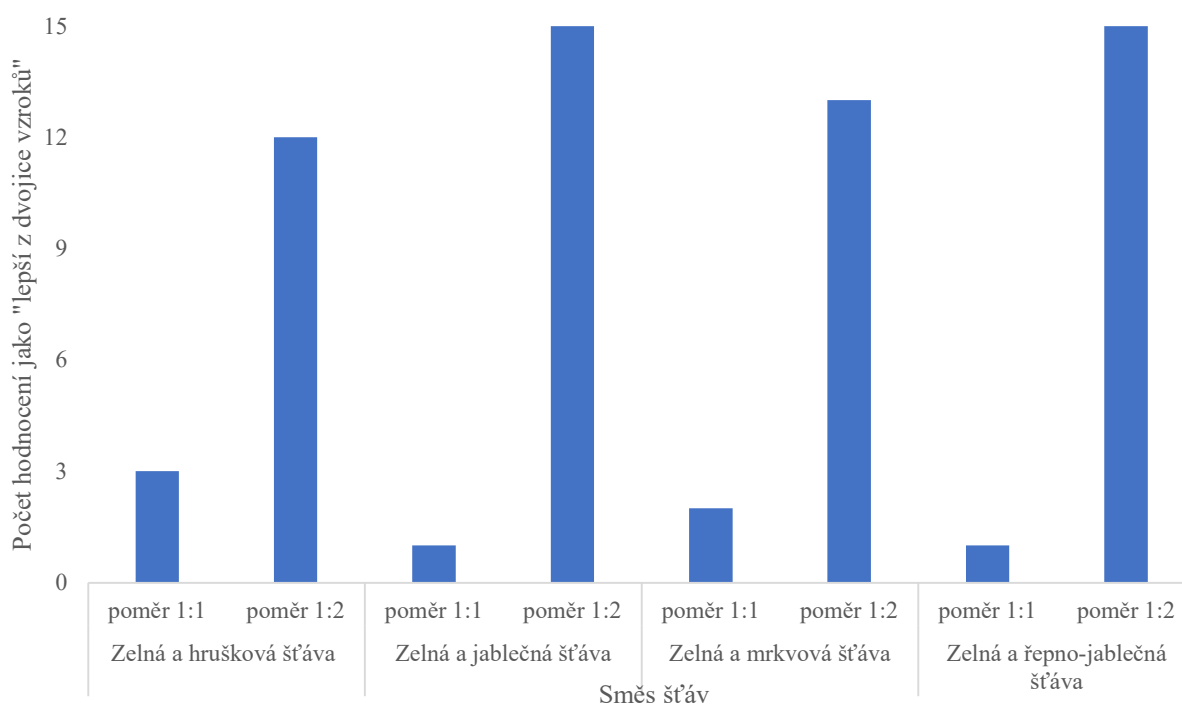
	Barva	Vůně	Chuť	Sladká	Hořká	Kyselá	Slaná	Ovocná	Trpká	Sacharidy	Cukry	Bílkoviny	Sůl
Barva	1,0000												
Vůně	0,3398	1,0000											
Chuť		0,2742	1,0000										
Sladká			0,3697	1,0000									
Hořká			-0,1859	-0,1793	1,0000								
Kyselá	-0,1405	-0,2444	-0,3987	-0,3771	0,2229	1,0000							
Slaná			-0,3313	-0,2442		0,2658	1,0000						
Ovocná	0,1622	0,2026	0,3513	0,5544	-0,1461	-0,2972	-0,1971	1,0000					
Trpká			-0,1649	-0,1698	0,4975	0,3091	0,2134	-0,0499	1,0000				
Sacharidy			0,1666	0,3461		-0,2688	-0,2889	0,3483	-0,1478	1,0000			
Cukry		0,1556	0,1736	0,3650		-0,2797	-0,2759	0,3809	-0,1426	0,9753	1,0000		
Bílkoviny	0,1946	0,1691	-0,2035		0,2381				0,1400	0,5566	0,5944	1,0000	
Sůl		-0,1761	-0,3133	-0,3370		0,3096	0,2671	-0,2812		-0,2203	-0,2057		1,0000
Hodnocení		0,2125	0,5825	0,4502	-0,2349	-0,3271	-0,2607	0,4015	-0,2404	0,2768	0,2918		-0,2675

Tabulka 18 Parciální korelační analýza. Uvedeny jsou signifikantně významné ($p = 0,05$) parciální korelace, negativní jsou vyznačeny červeně, pozitivní zeleně. Obzvláště významné parciální korelace jsou zvýrazněny tučně

	Barva	Vůně	Chuť	Sladká	Hořká	Kyselá	Slaná	Ovocná	Trpká	Sacharidy	Cukry	Bílkoviny	Sůl
Barva	1,0000												
Vůně	0,2540	1,0000											
Chuť		0,1649	1,0000										
Sladká				1,0000									
Hořká					1,0000								
Kyselá			-0,1901	-0,1555		1,0000							
Slaná			-0,1976				1,0000						
Ovocná				0,3742				1,0000					
Trpká					0,4165	0,1897	0,1721	0,1401	1,0000				
Sacharidy	-0,2787									1,0000			
Cukry	0,2282									0,9494	1,0000		
Bílkoviny	0,1483	0,1749	-0,2362	-0,2334	0,2225						0,2645	1,0000	
Sůl					-0,1467	0,1561							1,0000
Hodnocení			0,3859										-0,1399

5.1.5 Párová porovnávací zkouška

V rámci první sensorické analýzy dvousložkových vzorků džusů byli hodnotitelé vyzváni, aby vybrali lepší ze dvou vzorků. Výsledky jsou patrné na obrázku 27. Na základě postupu ČSN ISO 5495 [41] a párového T-testu bylo zjištěno, že mezi vzorky ve dvojici existují signifikantní ($p = 0,05$) rozdíly, z čehož vyplývá, že vzorky s vyšším obsahem přidané šťávy byly vybrány jako lepší oproti vzorkům s menším podílem přidané šťávy. Šťávy s vyšším podílem přidané šťávy byly tedy populárnější i navzdory faktu, že 50 % hodnotitelů uvedlo, že má rádo kysané zelí a jí ho často. Sensorického hodnocení se ale účastnilo málo hodnotitelů (ČSN ISO 5495 [41] požaduje alespoň 18 hodnotitelů), což je třeba mít při vyhodnocování na vědomí.

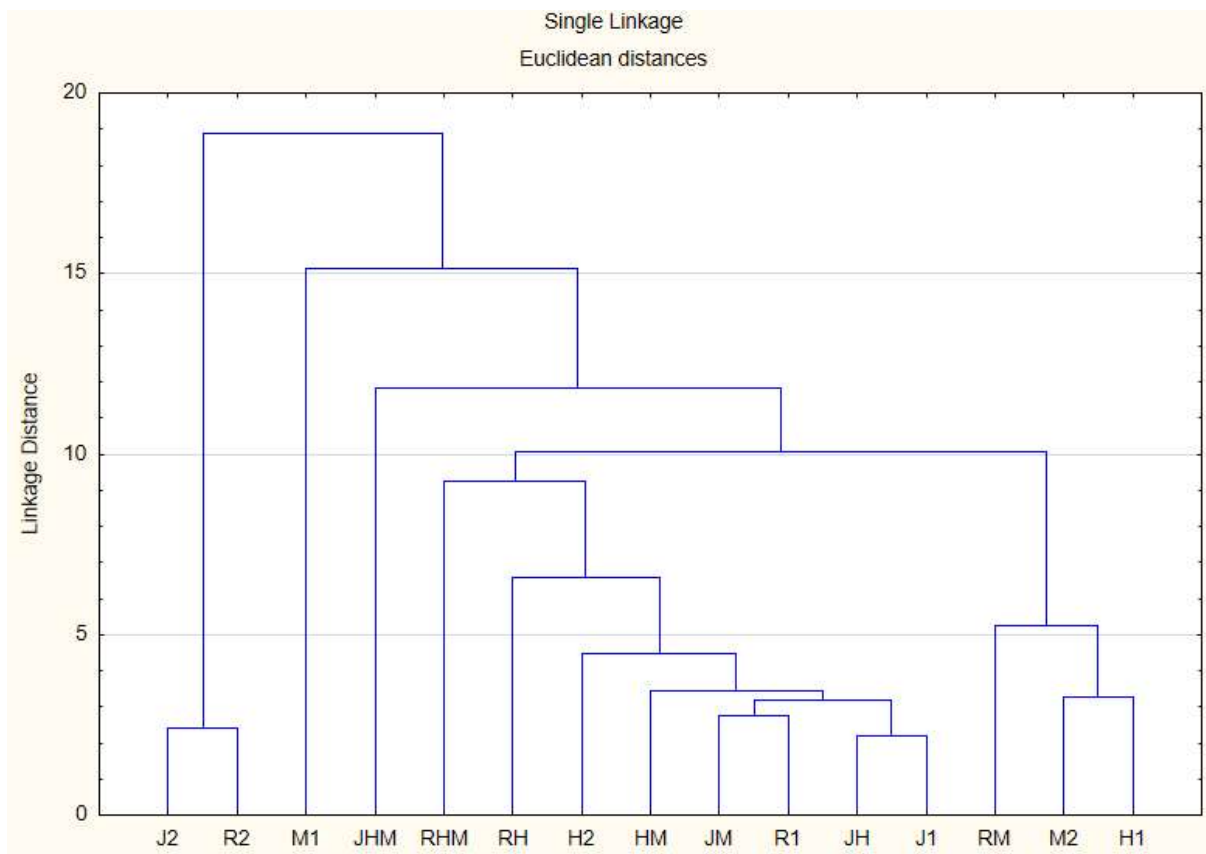


Obrázek 27 Porovnání dvousložkových vzorků

5.1.6 Dendrogram a PCA analýza

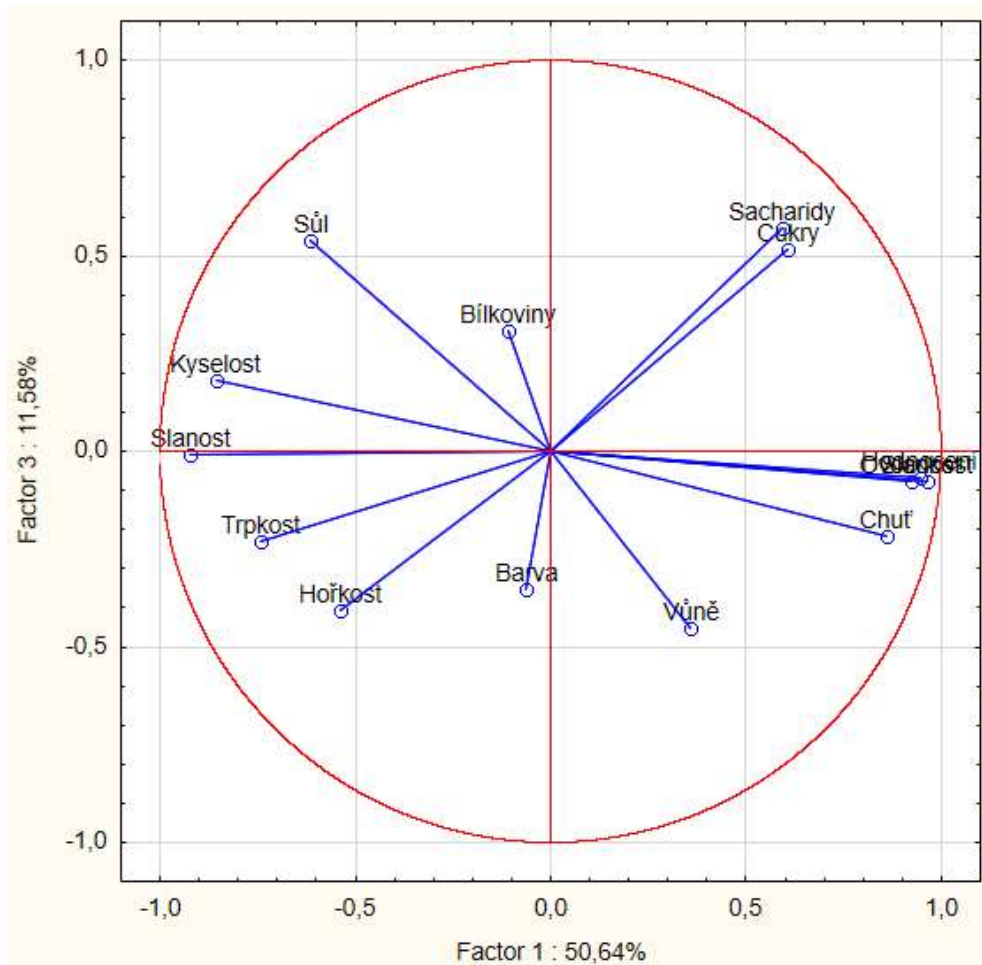
Pro sestavení dendrogramu i PCA analýzu byly použity průměrné hodnoty z již upravených datasetů, při sestavení byly zohledněny všechny hodnocené parametry i nutriční složení vzorků.

Z dendrogramu (obrázek 28) jsou patrné skupiny vzorků s podobnými vlastnostmi. Izolované jsou vítězné (R2 a J2) a poražené (M1, RM, M2 a H1) vzorky hodnocení.

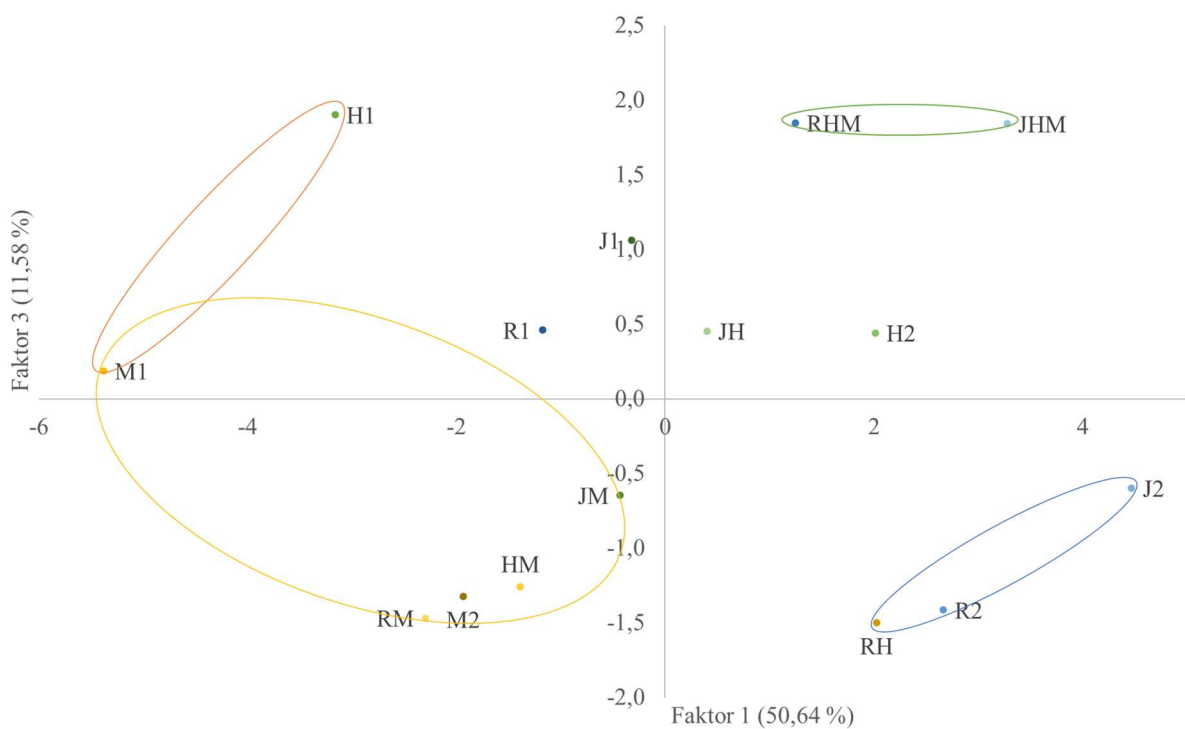


Obrázek 28 Dendrogram vzorků šťáv

Na PCA grafu (obrázky 29 a 30) je též patrná podobnost vzorků: lze pozorovat skupinu dobře (J2, R2 a RH), i špatně (H1 a M1) hodnocených vzorků, skupinu vzorků s mrkvovou šťávou (RM, HM, JM a M2), skupinu vzorků s vyšším obsahem ovocných šťáv (JHM a RHM) a skupinu neutrální (R1, J1, JH a H2).



Obrázek 29 Projekce proměnných na rovinu faktorů. Ve shluku napravo jsou uvedeny proměnné hodnocení, ovocná chuť a sladkost



Obrázek 30 Graf PCA

5.2 Charakterizace vybraných vzorků šťáv

Na základě senzorické analýzy vybrané směsi šťáv byly před obohacením probiotickou kulturou charakterizovány. Byla provedena následující stanovení: stanovení antioxidační aktivity, obsah celkových polyfenolů a flavonoidů, celkových ve vodě rozpustných sacharidů a redukujících sacharidů a pH.

Značení použitých vzorků je uvedeno v tabulce 19.

Tabulka 19 Označení analyzovaných vzorků

Zkratka	Složení
J	Jablečná šťáva a zelná šťáva
R	Jablečno-řepná a zelná šťáva
RH	Jablečno-řepná, hrušková a zelná šťáva
JHM	Jablečná, hrušková, mrkvová a zelná šťáva

5.2.1 Stanovení nutričních a bioaktivních látek pomocí spektrofotometrických metod

Všechny analyty byly stanoveny metodami uvedených v experimentální části této práce (3.7.1, 3.7.2, 3.7.3, 3.7.4, 3.7.5).

Pomocí kalibračních řad byly sestaveny kalibrační křivky (začínající bodem [0;0]) a byla vypočtena jejich hodnota spolehlivosti, obojí je uvedeno v tabulce 20. Rovnice byly použity k výpočtu koncentrací jednotlivých stanovovaných analytů.

Vzorky byly stanovovány v triplikátech, ze kterých byl vypočten průměr a směrodatná odchylka výběru.

Tabulka 20 Rovnice lineární regrese a jejich hodnoty spolehlivosti pro jednotlivá spektrofotometrická stanovení

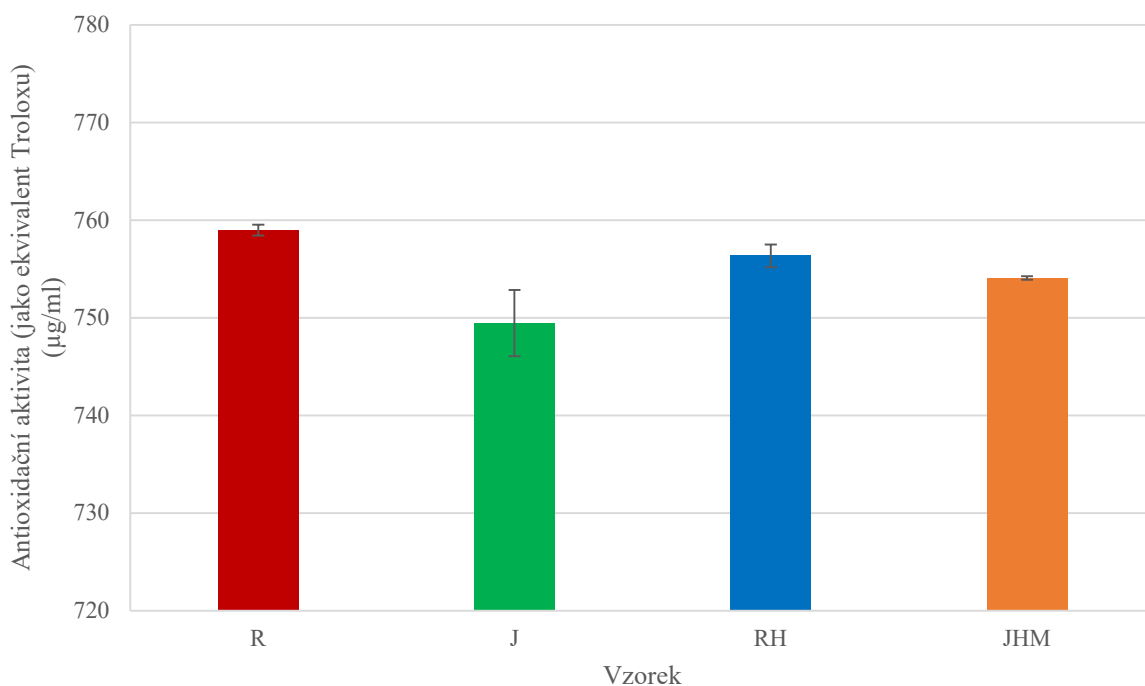
Stanovení	Rovnice kalibrační křivky	Hodnota spolehlivosti R ²
Antioxidační aktivita	$A (-) = 0,0009 \cdot c \text{ (}\mu\text{g/ml)}$	0,9961
Celkové polyfenoly	$A (-) = 1,5389 \cdot c \text{ (mg/ml)}$	0,9962
Celkové flavonoidy	$A (-) = 3,7815 \cdot c \text{ (mg/ml)}$	0,9992
Celkové sacharidy dle Dubois	$A (-) = 8,9406 \cdot c \text{ (mg/ml)}$	0,9978
Redukující sacharidy dle Somogyi-Nelsona	$A (-) = 20,7831 \cdot c \text{ (mg/ml)}$	0,9870

5.2.1.1 Antioxidační aktivita

Na obrázku 31 jsou znázorněny naměřené hodnoty antioxidační aktivity u neobohacených kultur. Všechny vzorky dosahovaly podobné antioxidační aktivity, nejvyšší však byla u vzorku R ($759,0 \pm 0,6 \mu\text{g/ml}$).

Hodnoty antioxidační aktivity zřejmě souvisejí s barvou vzorků: nejvyšší hodnoty byly stanoveny u červených (R a RH), nejmenší naopak u žlutého vzorku (J).

Stanovené hodnoty antioxidační aktivity odpovídaly hodnotám pro šťávu z kysaného zelí, tj. $750 \pm 50 \mu\text{g/ml}$ [48] a $356,8\text{--}845,5 \mu\text{g/g}$ suché váhy pro různé odrůdy [49].



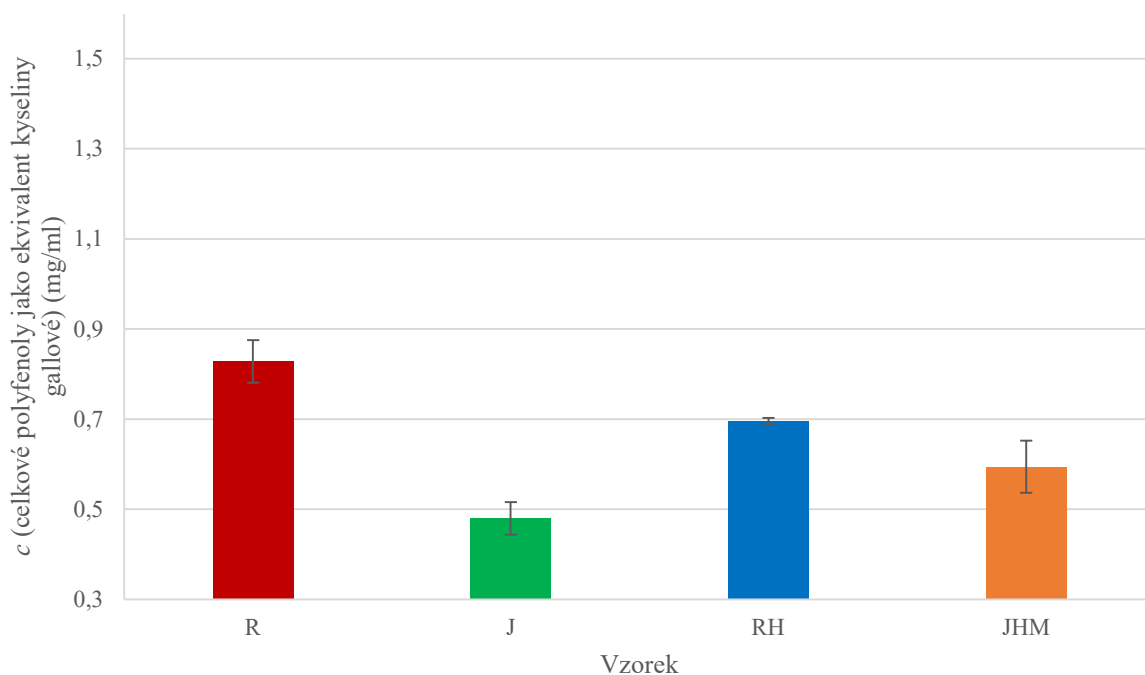
Obrázek 31 Naměřená antioxidační aktivita

5.2.1.2 Celkové polyfenoly

Na obrázku 32 jsou znázorněné naměřené hodnoty celkových polyfenolů u neobohacených vzorků. Všechny vzorky dosahovaly podobného obsahu celkových polyfenolických látek, nejvyšší však byl u vzorku R ($0,83 \pm 0,05$ mg/ml).

Hodnoty celkových polyfenolů zřejmě souvisejí s barvou vzorků: nejvyšší hodnoty byly stanoveny u červených (R a RH), nejmenší naopak u žlutého vzorku (J). Zároveň mohl obsah polyfenolů souviset s obsahem ovocných šťáv. Největší obsah polyfenolů obsahuje z použitých surovin hruška ($6,69-2,19$ mg/g suché váhy [50]), následuje jablko ($2,25-1,25$ mg/g [51]), menší obsah polyfenolů se vyskytuje v červené řepa ($0,33 \pm 0,01$ mg/g suché váhy [52]) a mrkvi ($0,15$ mg/g čerstvé váhy [53]). Je nutné ale brát v potaz, že během zpracování a skladování, a také v závislosti na použité odrůdě suroviny se bude obsah polyfenolů lišit. Hodnota polyfenolů v džusech tedy souvisí zejména s podílem hruškové a jablečné šťávy (uvedeno v abulka 13).

Naměřený obsah celkových polyfenolů výrazně vyšší než u vzorků zelných šťáv s obsahem *L. plantarum* ($0,32 \pm 0,01$ mg/ml) [48]. Rozdíl je zřejmě způsoben přítomností přidaných ovocných a zeleninových šťáv.



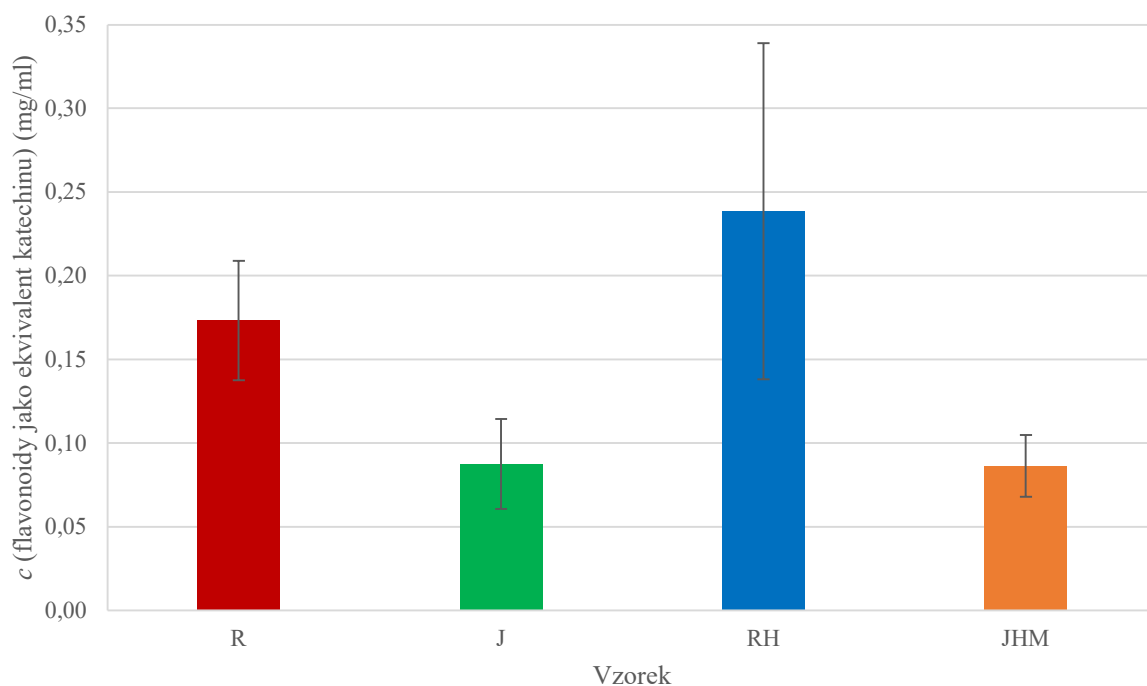
Obrázek 32 Naměřené hodnoty celkový polyfenolů

5.2.1.3 Celkové flavonoidy

Na obrázku 33 jsou patrné naměřené hodnoty flavonoidů u neobohacených džusů. Nejvyšší hodnota byla naměřena u vzorku RH ($0,24 \pm 0,10$ mg/ml), nejmenší naopak u vzorků J ($0,09 \pm 0,01$ mg/ml) a JHM ($0,09 \pm 0,02$ mg/ml).

Hodnoty celkových flavonoidů mohly souviset s barvou vzorků: nejvyšší hodnoty byly stanoveny u červených (R a RH), nejmenší naopak u žlutého as oranžového vzorku (J a JHM). Zároveň mohl obsah flavonoidů souviset s obsahem ovocných šťáv. Největší obsah flavonoidů obsahuje z použitých surovin hruška ($2,16$ – $1,42$ mg/g suché váhy [50]), následuje jablko ($1,10$ – $0,55$ mg/g [51]), menší obsah flavonoidů se vyskytuje v červené řepa ($0,0081$ mg/g suché váhy [52]) a mrkvi ($0,0533$ mg/g čerstvé váhy [53]). Je nutné ale brát v potaz, že během zpracování a skladování, a také v závislosti na použité odrůdě suroviny se bude obsah flavonoidů lišit. Hodnota flavonoidů v džusech tedy souvisí zejména s podílem hruškové a jablečné šťávy (uvedeno v tabulce 13).

Naměřený obsah celkových flavonoidů byl shodný u vzorků R a RH se vzorky zelných šťáv s obsahem *L. plantarum* ($0,20 \pm 0,01$ mg/ml), naopak vzorků J a JHM byl obsah menší [48].



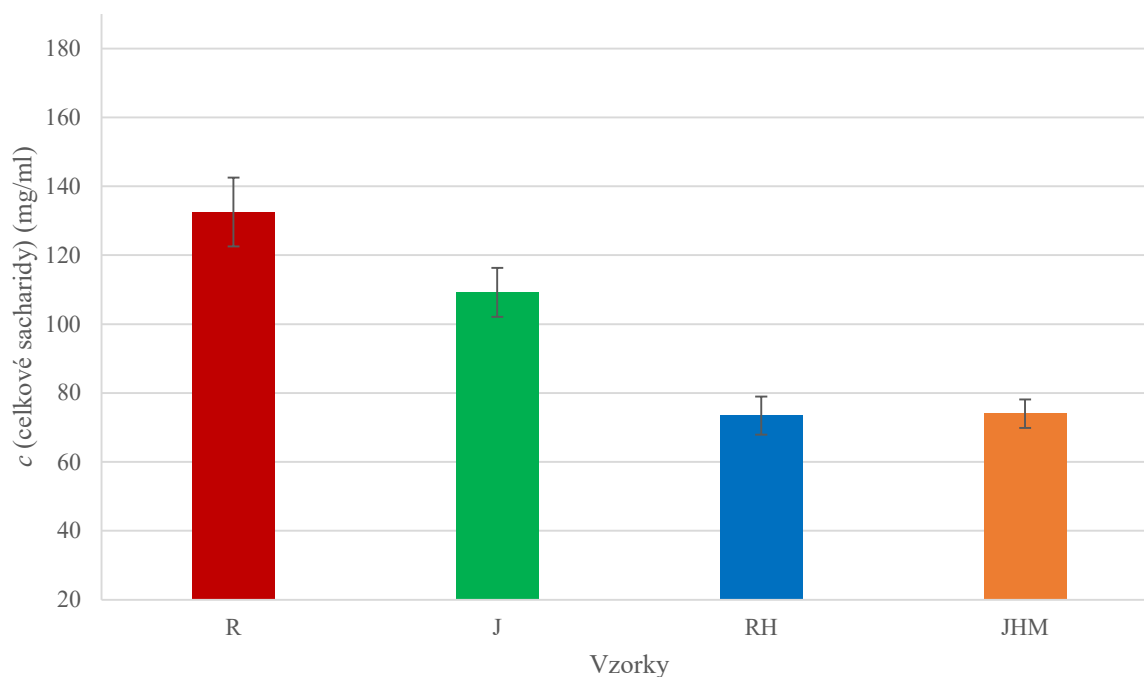
Obrázek 33 Naměřené hodnoty celkový flavonoidů

5.2.1.4 Celkové sacharidy dle Dubois

Na obrázku 34 jsou znázorněny hodnoty celkových ve vodě rozpustných sacharidů stanovených metodou Dubois u neobohacených šťáv.

Naměřený obsah celkových sacharidů v původních vzorcích odpovídal teoretickému množství sacharidů (vypočtenému pomocí nutričního složení výrobků uvedených v tabulce 14) pouze u vzorku RH (teoretický 7,63 g/100 ml, stanovený $7,35 \pm 0,55$ g/100 ml), u vzorků R (teoretický 6,73 g/100 ml, stanovený $13,25 \pm 1,00$ g/100 ml) a J (teoretický 7,87 g/100 ml, stanovený $10,93 \pm 0,71$ g/100 ml) byl naměřený obsah příliš vysoký a u vzorku JHM (teoretický 16,25 g/100 ml, stanovený $7,40 \pm 0,41$ g/100 ml) naopak příliš nízký. Nízký obsah u vzorku JHM byl zřejmě způsoben obsahem pevných částic v mrkvové a hruškové šťávě ve vzorku, která byla odstraněna při ředění a centrifugaci.

Naměřený obsah celkových sacharidů v původních vzorcích neodpovídal teoretickému množství cukrů (tabulce 14) u žádného vzorku (R: teoretický 6,53 g/100 ml, J: teoretický 7,67 g/100 ml, RH: teoretický 6,23 g/100 ml, JHM: teoretický 15,1 g/100 ml).



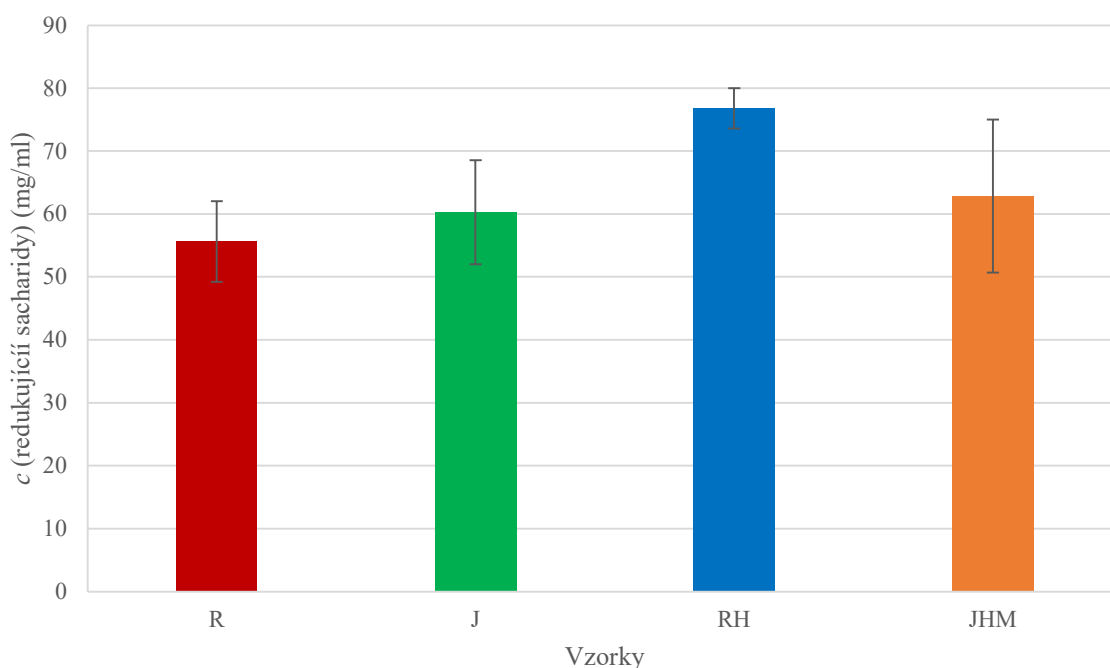
Obrázek 34 Naměřené hodnoty celkových sacharidů (dle Dubois)

5.2.1.5 Redukující sacharidy dle Somogiy-Nelsona

Na obrázku 35 jsou patrné naměřené hodnoty ve vodě rozpustných redukujících sacharidů stanovených metodou dle Somogiy-Nelsona u neobohacených džusů.

Naměřený obsah redukujících sacharidů v původních vzorcích odpovídal teoretickému množství sacharidů (tabulka 14) pouze u vzorku RH (teoretický 7,63 g/100 ml, stanovený $7,68 \pm 0,32$ g/100 ml), u vzorků R (teoretický 6,73 g/100 ml, stanovený $5,57 \pm 0,64$ g/100 ml), J (teoretický 7,87 g/100 ml, stanovený $6,03 \pm 0,83$ g/100 ml) a JHM (teoretický 16,25 g/100 ml, stanovený $6,29 \pm 1,22$ g/100 ml) byl naměřený obsah příliš nízký.

Naměřený obsah redukujících sacharidů v původních vzorcích neodpovídal teoretickému množství cukrů (tabulka 14) u žádného vzorku (R: teoretický 6,53 g/100 ml, J: teoretický 7,67 g/100 ml, RH: teoretický 6,23 g/100 ml, JHM: teoretický 15,1 g/100 ml). Je třeba mít na paměti, že sacharosa (která se zahrnuje do cukrů v rámci nutričního složení) není redukující cukru a není možné ji stanovit metodou dle Somogiy-Nelsona.



Obrázek 35 Naměřené hodnoty redukujících sacharidů (dle Somogiy-Nelsona)

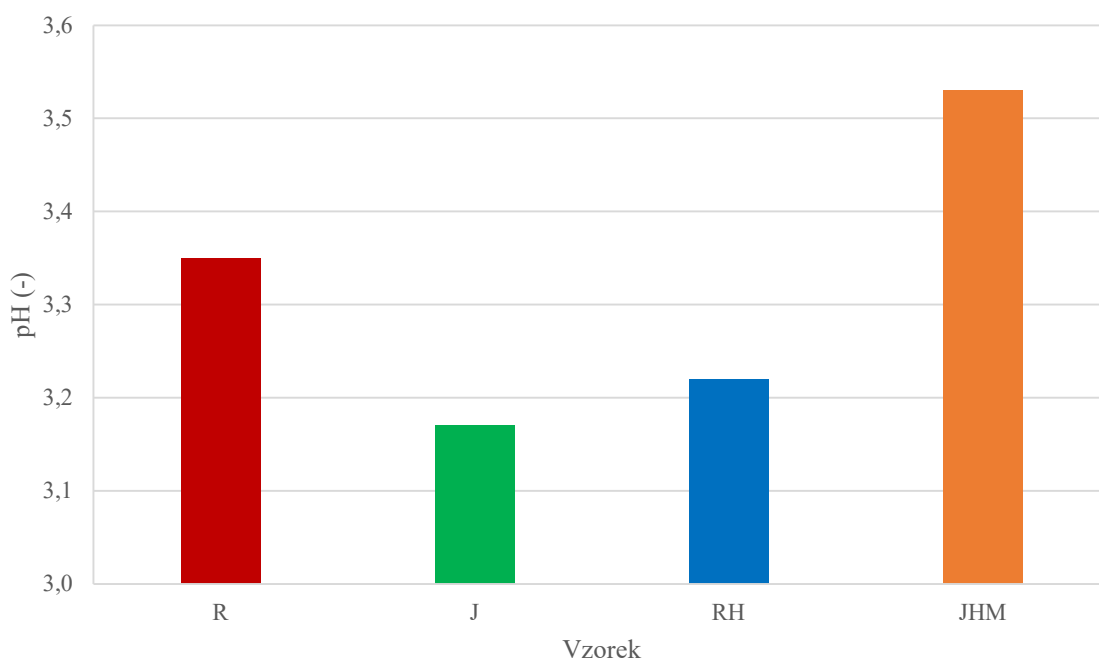
5.2.2 Stanovení pH

Na obrázku 36 jsou znázorněny naměřené hodnoty pH u neobohacených vzorků.

Měření pH proběhlo dle postupu v experimentální části této práce (3.10).

Rozdíly pH mezi vzorky jsou pouze minimální. Tato zjištění odpovídá výsledkům sensorické analýzy, kdy mezi vzorky nebyly, co se týče kyselosti, významné rozdíly (obrázek 25).

Stanovené pH se příliš nelišilo od pH stanoveného u vzorků zelených šťáv obohacených o *L. plantarum* (3,47) [48]. Mírné rozdíly se vyskytly z důvodu přídavku ovocných a zeleninových šťáv v různém poměru.



Obrázek 36 Naměřené hodnoty pH

5.3 Sledování stability vybraných vzorků šťáv obohacených probiotickou kulturou

Na základě senzorické analýzy byly vybrané směsi šťáv obohaceny o probiotickou složku za účelem zvýšení jejich biologického účinku, a to přidavkem kultury *Lactobacillus plantarum*. Ovočno-zeleninová šťáva pak může být díky probiotickému přídatku považována za nový typ probiotické funkční potraviny s pozitivním vlivem na střevní mikroflóru, a tedy na celkový organismus konzumenta. Z tohoto důvodu byla také sledována dlouhodobá stabilita biologicky aktivních látek a viability přidaného probiotika v průběhu po delší dobu, nežli byla doporučena trvanlivost zelné šťávy (14 dní).

5.3.1 Stanovení nutričních a bioaktivních látek pomocí spektrofotometrických metod

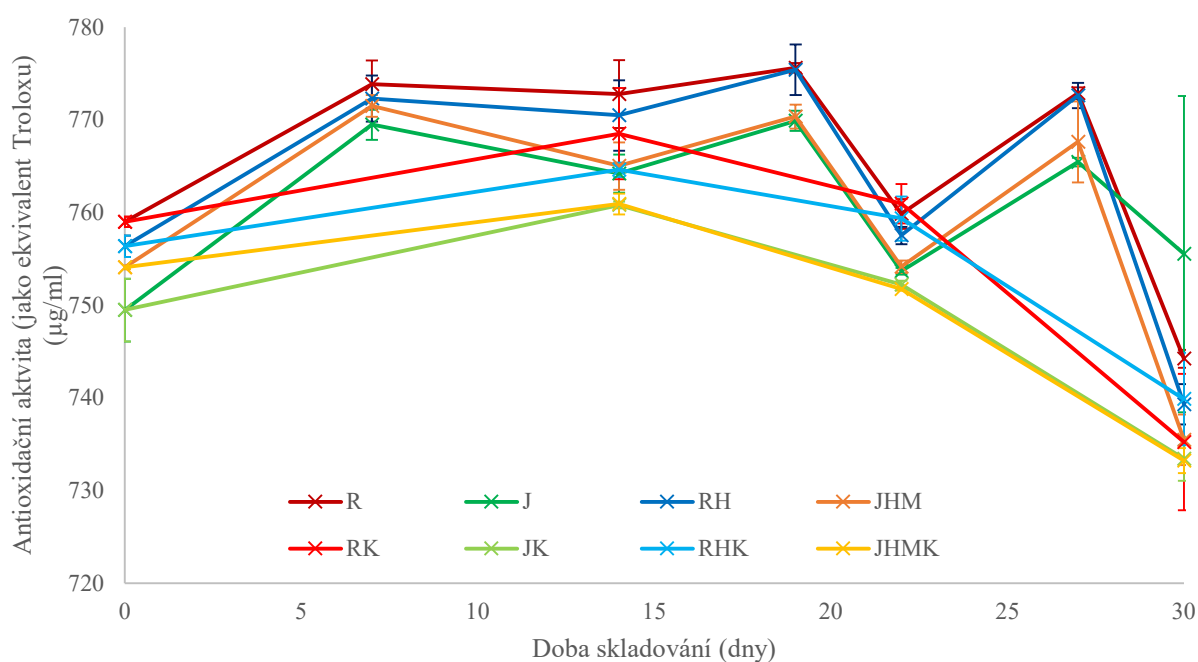
Stanovení proběhlo dle stejného postupu a za použití stejných rovnic kalibračních křivek jako v kapitole 5.2.1.

Jelikož byl každý z duplikátů stanovený v triplikátech, byly průměr a směrodatná odchylka výběru stanoveny z hexaplikátů. U kontrolních vzorků byly stanoveny průměr a směrodatná odchylka stanovená z triplikátů.

5.3.1.1 Antioxidační aktivita

Na obrázku 37 je graficky znázorněna závislost antioxidační aktivity (jako ekvivalent Troloxu) na době skladování. Je patrná vyšší antioxidační aktivita u vzorků zbarvených červeně (R, RK, RH a RHK) než u vzorků oranžových a žlutých (J, JK, JHM a JHMK). Vzorky obohacené o probiotickou kulturu také obecně vykazují větší antioxidační aktivitu než vzorky kontrolní, což mohlo být způsobeno přítomností antioxidantů vlastních probiotické kultuře, případně produkcí antioxidačních metabolitů nebo chelataci kovových iontů [54]. K výraznějším změnám dochází až 30. den skladování, kde dochází k mírnému poklesu.

V prvním týdnu byla stanovená antioxidační aktivita u všech vzorků větší (770–774 $\mu\text{g/ml}$), než u vzorků zelné šťávy obohacené o kulturu *L. plantarum* (750 \pm 20 $\mu\text{g/ml}$), v druhém týdnu je však výrazně menší (764–773 $\mu\text{g/ml}$), než ve vzorcích zelné šťávy obohacené o kulturu *L. plantarum* (900 \pm 20 $\mu\text{g/ml}$) [48].



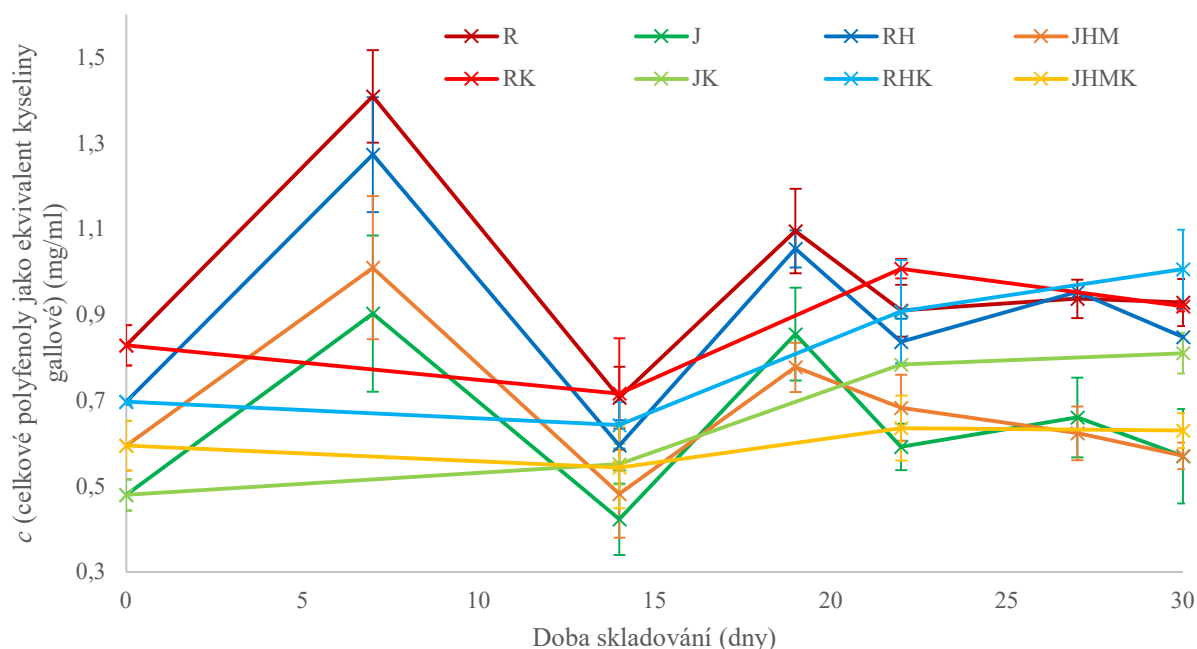
Obrázek 37 Vliv doby skladování na antioxidační aktivitu. Kontrolní vzorky bez přídavku probiotika jsou označeny písmenem K.

5.3.1.2 Celkové polyfenoly

Na obrázku 38 je graficky znázorněna závislost celkového obsahu polyfenolických látek na době skladování. Obsah polyfenolických látek kolísal do dne 19, jejich obsah se poté stabilizoval.

Průměrný obsah celkových polyfenolů byl v prvním i druhém týdnu výrazně vyšší, stejně jako výchozí hodnoty než u vzorků zelných šťáv s obsahem *L. plantarum* (první týden: $0,33 \pm 0,01$ mg/ml, druhý týden: $0,32 \pm 0,01$ mg/ml) [48]. Rozdíl je zřejmě způsoben přítomností přidávaných ovocných a zeleninových šťáv.

Některé kmeny *Lactobacillus plantarum* mohou produkovat některé fenolické látky, a tím zvyšovat antioxidační aktivitu i obsah celkových fenolických látek [55, 56], což vysvětluje nárůst obsahu polyfenolů v 7. dni skladování. Polyfenoly také mohou být metabolizovány [55], což objasňuje pokles jejich hodnot ve 14. dni skladování.



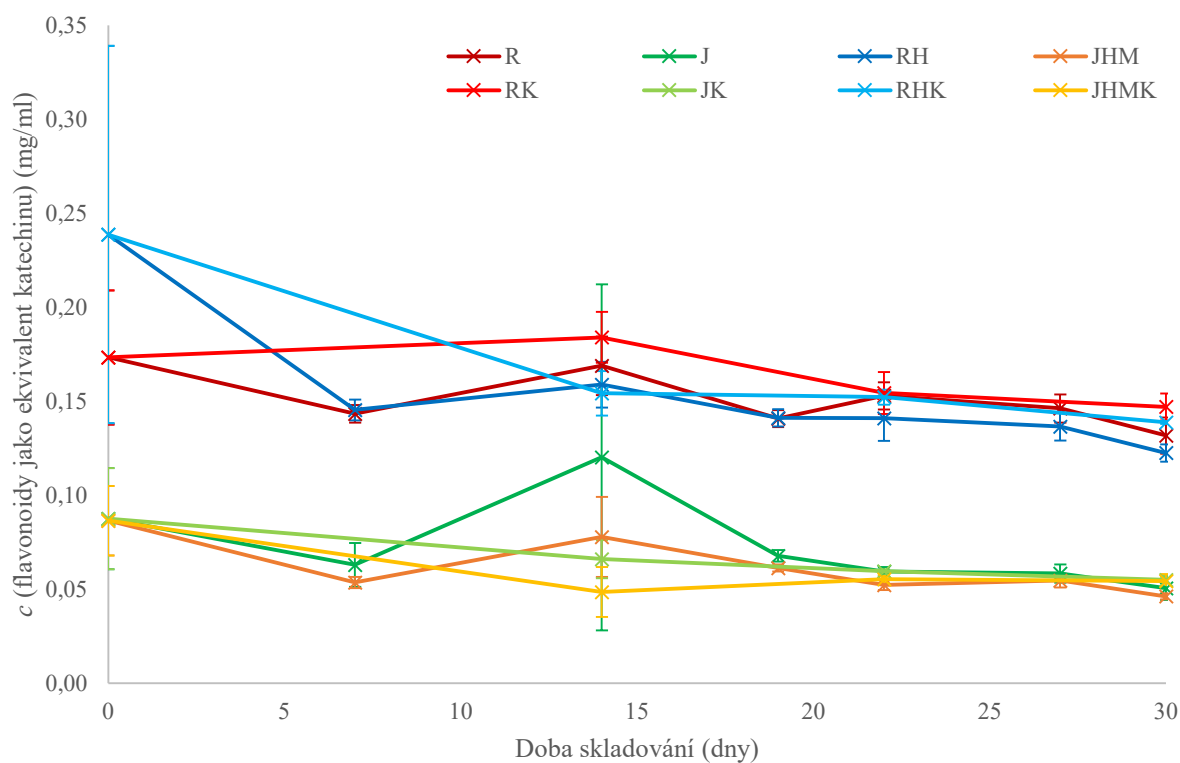
Obrázek 38 Vliv doby skladování na celkový obsah polyfenolů. Kontrolní vzorky bez přídavku probiotika jsou označeny písmenem K.

5.3.1.3 Celkové flavonoidy

Závislost celkového obsahu flavonoidů (stanovených jako ekvivalent katechinu) na době skladování je graficky znázorněna na obrázku 39. Obsah celkových flavonoidů s dobou skladování klesal, a to i u vzorků kontrolních. Vyšší obsah celkových flavonoidů byl stanoven v červených vzorcích (R, RK, RH a RHK) než ve vzorcích žlutých a oranžových (J, JK, JHM a JHMK).

Vyšší hodnoty koncentrace flavonoidů v červeně zbarvených vzorcích však mohly být způsobeny přítomností červených betacyanových (např. betanin), které se mezi flavonoidy neřadí [11].

Průměrný obsah celkových flavonoidů byl v prvním i druhém týdnu výrazně vyšší než u vzorků zelných šťáv s obsahem *L. plantarum* (první týden: $0,04 \pm 0,01$ mg/ml, druhý týden: $0,05 \pm 0,01$ mg/ml) [48].

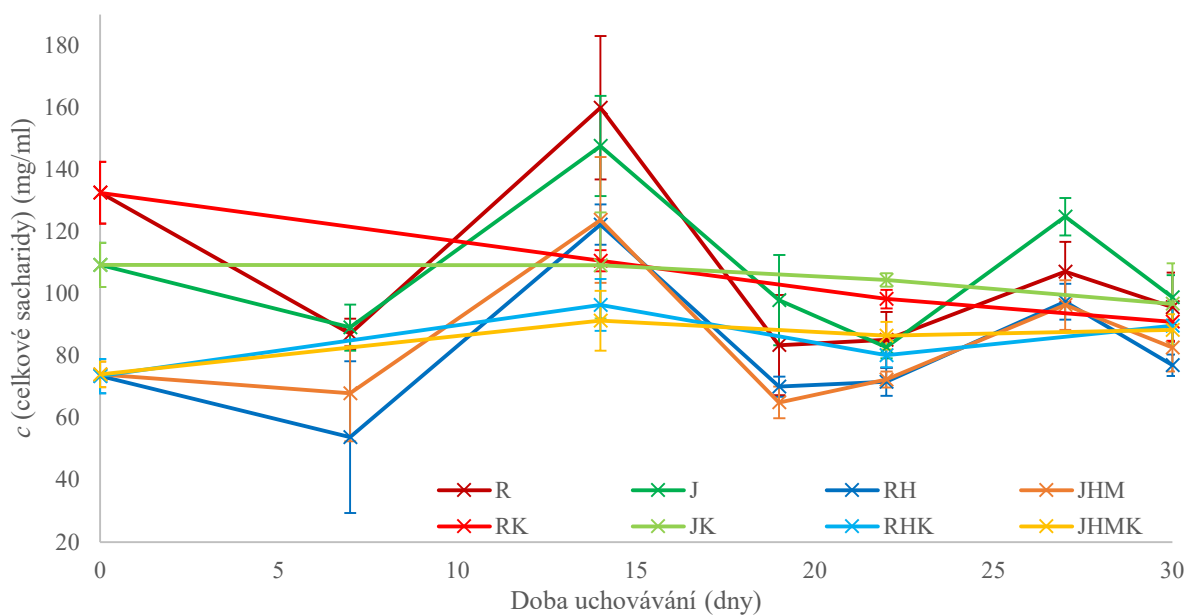


Obrázek 39 Vliv doby skladování na celkový obsah flavonoidů. Kontrolní vzorky bez přídavku probiotika jsou označeny písmenem K.

5.3.1.4 Celkové sacharidy dle Dubois

Grafické znázornění závislosti celkových sacharidů (stanovených metodou dle Dubois) je patrné na obrázku 40. Obsah celkových sacharidů kolísá (nárůst v 14. den a 27. den, pokles 7., 19., 22. a 30. den) u vzorků s obsahem probiotické kultury. V případě kontrolních vzorků bez přídavku probiotické kultury je obsah sacharidů stabilní nebo se mění pouze minimálně. Od 19. dne už nejsou výkyvy výrazné.

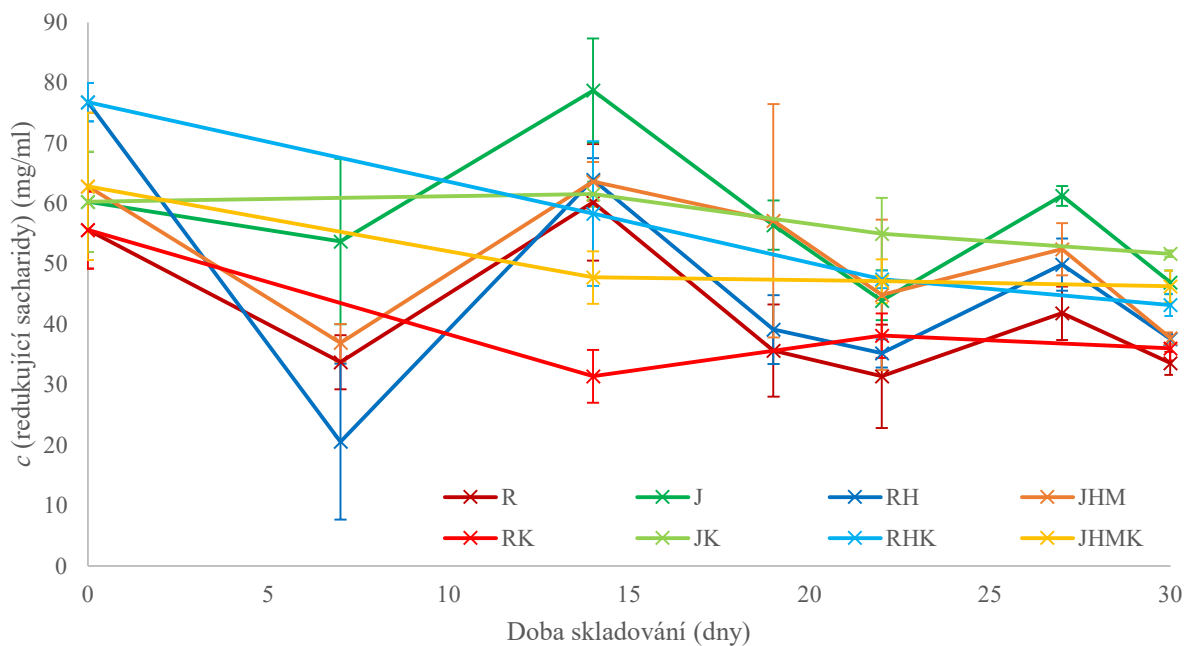
Velké kolísání u zaočkovaných kultur bylo pravděpodobně způsobeno probíhajícím metabolismem sacharidů: ať již rozkladem během skladování [56] či syntézou polysacharidů [57].



Obrázek 40 Vliv doby skladování na celkový obsah sacharidů (stanovených metodou dle Dubois). Kontrolní vzorky bez přídavku probiotika jsou označeny písmenem K.

5.3.1.5 Redukující sacharidy dle Somogyi-Nelsona

Obrázek 41 znázorňuje grafickou závislost obsahu redukujících sacharidů (stanovených metodou dle Somogyi-Nelsona) na době skladování. Trendy obsahu redukujících sacharidů obecně kopírují trendy v obsahu celkových sacharidů stanovených dle Dubois (5.3.1.4 Celkové sacharidy dle Dubois), konkrétně poklesy v 7., 19., 22. 30. dnu skladování a nárusty v 14. a 27. dnu skladování. Výkyvy tedy mohou mít stejnou příčinu (rozklad sacharidů během skladování [56] a syntéza polysacharidů [57]).



Obrázek 41 Vliv doby skladování na obsah redukujících cukrů (stanovených metodou dle Somogyi-Nelsona). Kontrolní vzorky bez přídavku probiotika jsou označeny písmenem K.

5.3.2 Stanovení senzoričkých a bioaktivních látek pomocí HPLC

Ke stanovení analytů byla použita metoda uvedená v kapitole 3.8. Použitím standardů byly stanoveny retenční časy píků jednotlivých analytů, kalibrační křivky (začínající bodem [0;0]) byly sestaveny pomocí kalibračních řad (začínající bodem [0;0]) a byla vypočtena jejich hodnoty spolehlivosti, vše je uvedeno v tabulce 21. Rovnice byly použity k výpočtu koncentrací jednotlivých stanovovaných analytů.

Tabulka 21 Retenční časy, rovnice lineární regrese a jejich hodnoty spolehlivosti pro jednotlivé analyty při stanovení pomocí HPLC

Analyt	Detektor	Retenční čas (min)	Rovnice lineární regrese	Hodnota spolehlivosti R ²
Kyselina citronová	UV-Vis	2,564	$Area (mA \cdot min) = 31,0084 \cdot c (mg/ml)$	0,9998
Kyselina L-askorbová	UV-Vis	3,090	$Area (mA \cdot min) = 279,1524 \cdot c (mg/ml)$	0,9999
Kyselina mléčná	UV-Vis	3,780	$Area (mA \cdot min) = 16,4931 \cdot c (mg/ml)$	1,0000
Kyselina octová	UV-Vis	4,41	$Area (mA \cdot min) = 16,1652 \cdot c (mg/ml)$	0,9991

Příklad chromatogramu je uveden v příloze 7. Z důvodu nedetekovaných píků ve vzorcích nebylo možné detekovat kyselinu citronovou a octovou.

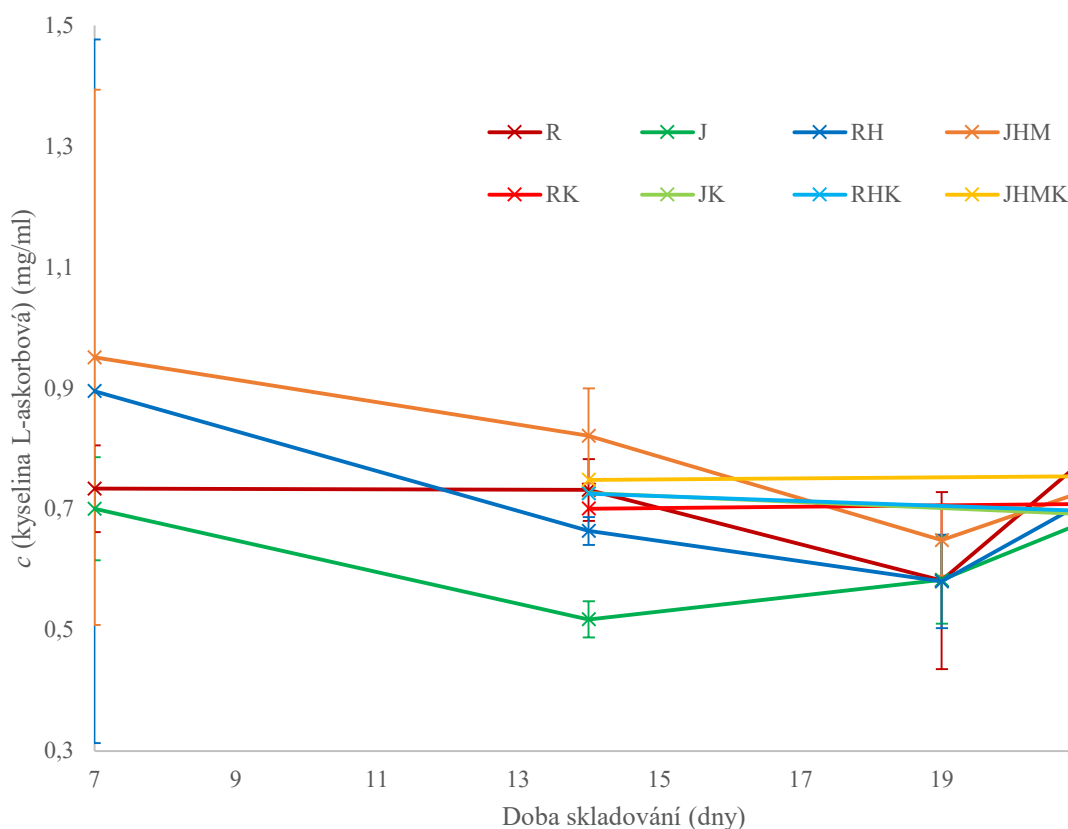
Na základě výsledků stanovení pH a koncentrace buněk pomocí cytometru byly stanoveny pouze vzorky skladované do 22. dne, původní stav vzorků (0. den) nebyl stanovován. Vzorky s přidanou probiotickou kulturou byly stanovovány v duplikátech (byl u nich vypočten průměr a směrodatná odchylka výběr).

5.3.2.1 Kyselina L-askorbová

Na obrázku 42 je graficky znázorněna závislost obsahu kyseliny L-askorbové na době skladování. Obsah až do 19. dne pozvolna klesal, poté došlo k nárůstu. Obsah kyseliny L-askorbové se v kontrolních vzorcích neměnil.

Nejvyšší obsah kyseliny L-askorbové byl ve vzorku JHM, což bylo pravděpodobně způsobeno nejvyšším množstvím přidávaných šťáv (75 %).

Průměrný stanovený obsah kyseliny L-askorbové v prvním (0,70–0,95 mg/ml) a druhém (0,52–0,82 mg/ml) týdnu byl vyšší než u vzorků zelných šťáv s obsahem *L. plantarum* ($0,43 \pm 0,01$ mg/ml) [48]. Vyšší hodnoty jsou zřejmě způsobené obsahem přidávaných ovocných a zeleninových šťáv.

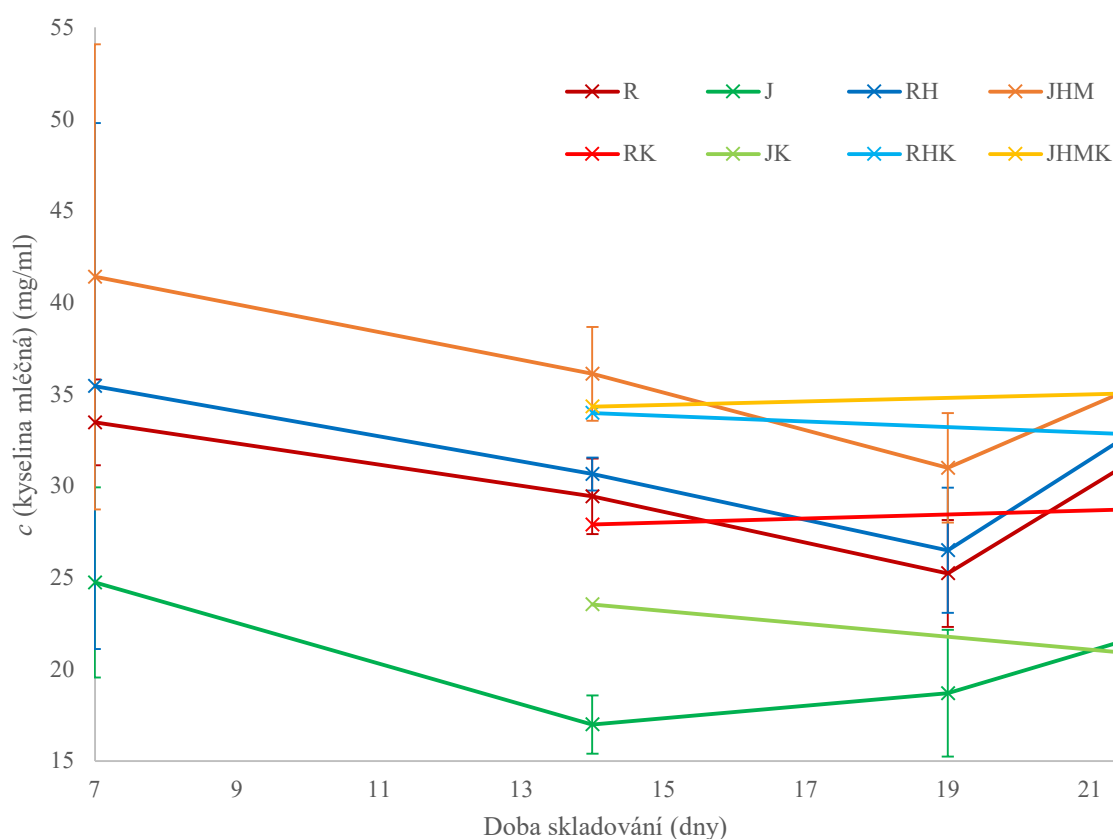


Obrázek 42 Vliv doby skladování na obsah kyseliny L-askorbové (stanovené pomocí HPLC). Kontrolní vzorky bez přidavku probiotika jsou označeny písmenem K.

5.3.2.2 Kyselina mléčná

Závislost obsahu kyseliny mléčné je možno pozorovat na obrázku 43. Podobně jako u kyseliny L-askorbové, obsah kyseliny mléčné klesal až do 19. dne, poté došlo k nárůstu. Nárůst mohl být způsoben metabolismem přidaného probiotika, naopak pokles mohl být zapříčiněn rozkladem. Ačkoli vzorek JHM obsahoval nejmenší množství zelné šťávy (25 %, vzorky R, J a RH obsahovaly 33,3 %), bylo v něm naměřeno nejvyšší množství kyseliny mléčné. U kontrolních vzorů nedocházelo k větším změnám obsahu kyseliny mléčné.

Částečně jsou patrné souvislosti se stanovením sacharidů (5.3.1.4, 5.3.1.5). Minimum (u vzorku J) a pokles v obsahu kyseliny mléčné odpovídal nárůstu v obsahu sacharidů. Tento vývoj naznačuje zvýšenou aktivitu probiotické kultury, doprovázenou spotřebou sacharidů a tvorbou metabolitů (např. kyseliny mléčné) v době do 7. dne. Od 7. do 14. dne zřejmě převažovalo štěpení polysacharidů.

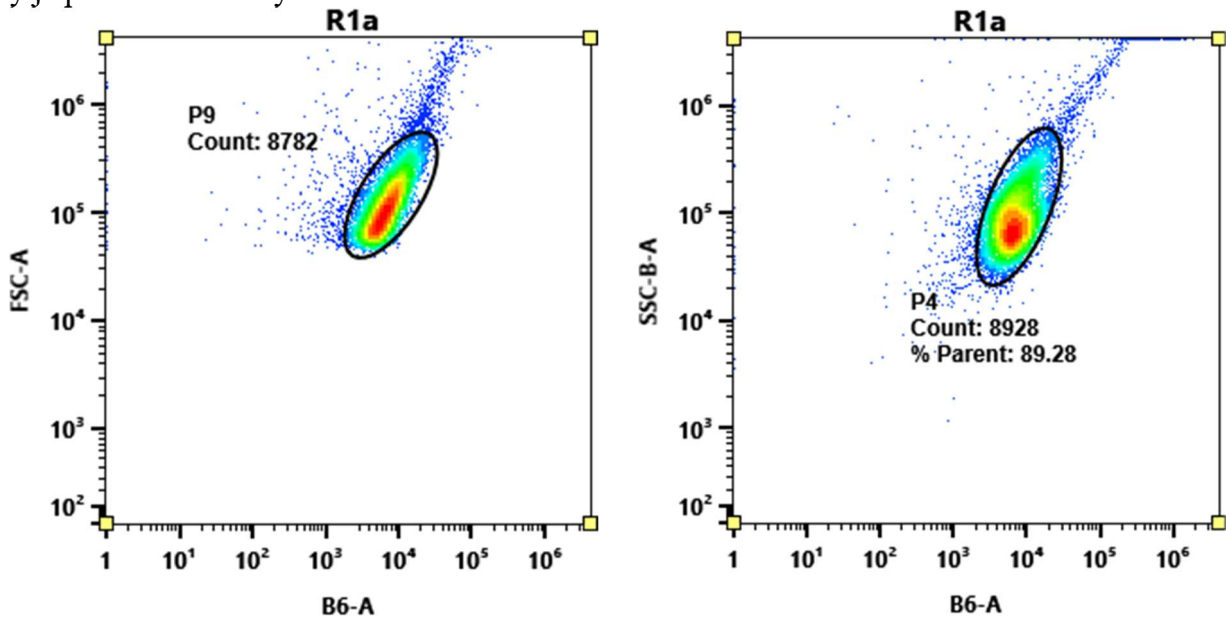


Obrázek 43 Vliv doby skladování na obsah kyseliny mléčné (stanovené pomocí HPLC). Kontrolní vzorky bez přídavku probiotika jsou označeny písmenem K.

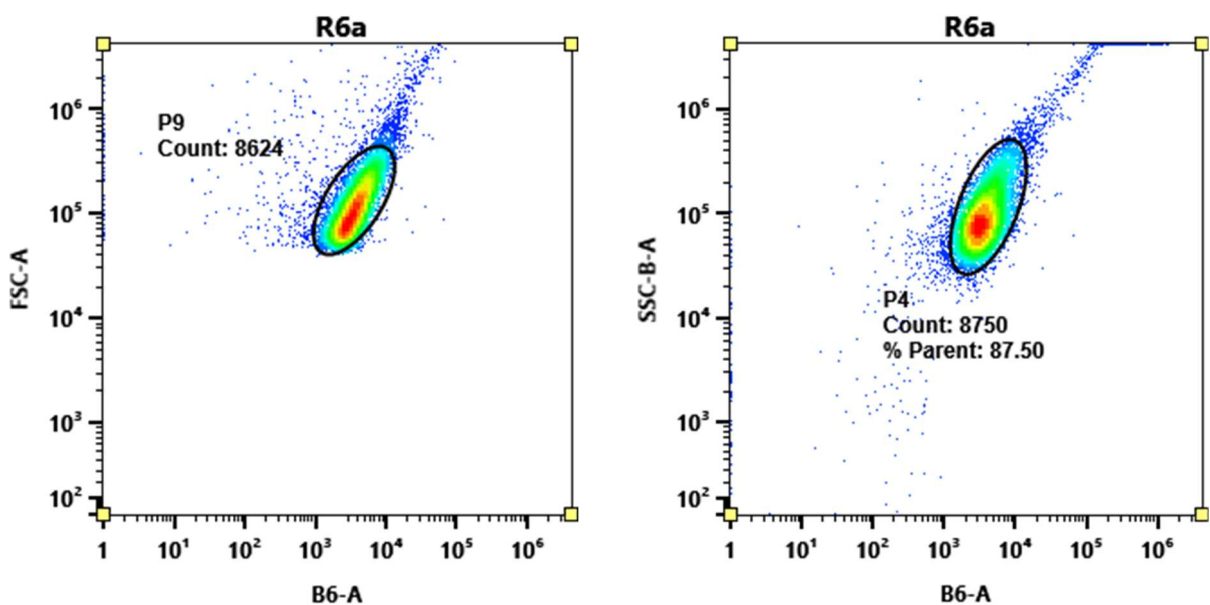
5.3.3 Stanovení koncentrace probiotických buněk pomocí spektrálního průtokového cytometru

Koncentrace probiotických buněk pomocí spektrálního průtokového cytometru byla stanovena metodou uvedenou v kapitole 0.

Příklady výstupů ve formě cytogramů pro vzorky R1a a R6 jsou patrné na obrázcích 44 a 45. Na kanálu Forward Scatter (FSC) je patrná velikost buněk, na kanálu Side Scatter (SSC) je patrná morfologie buněk. Obojí zobrazují populaci buněk, díky které byla vypočtena koncentrace buněk (CFU/ml). Na ose x je znázorněna intenzita emise propidium jodidu, na ose y je počet detekovaných buněk.



Obrázek 44 Cytogramy pro vzorek R1a



Obrázek 45 Cytogramy pro vzorek R6a

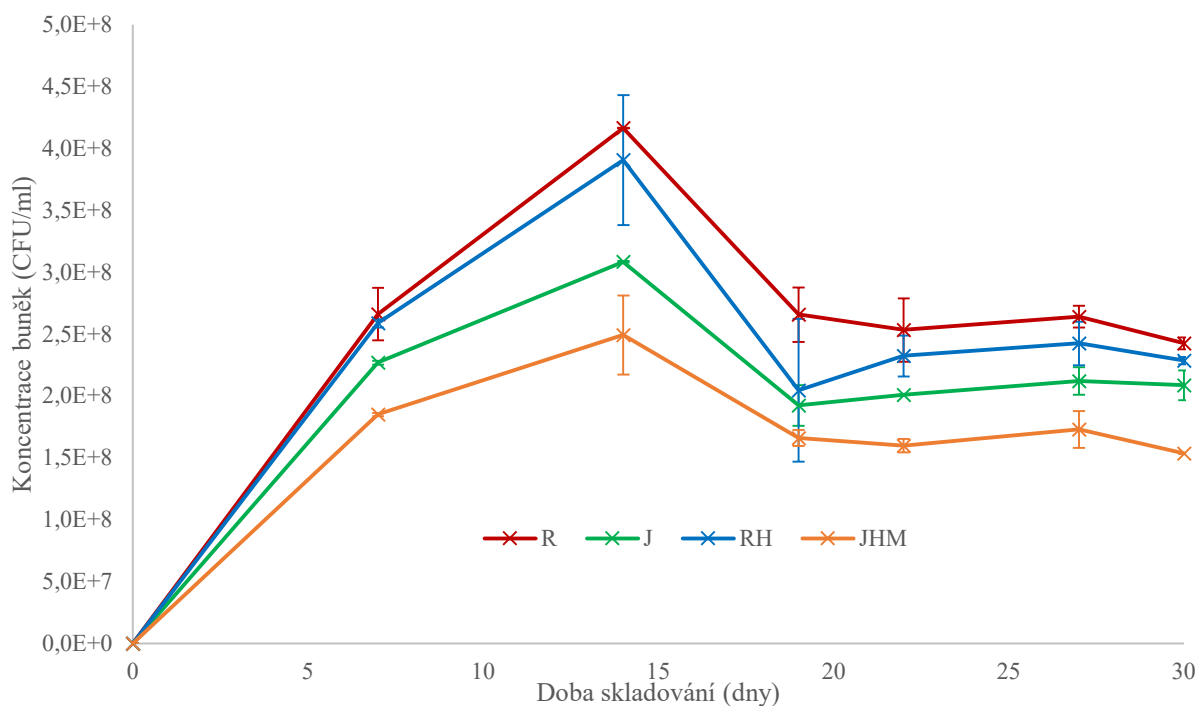
Na obrázku 46 je patrná závislost počtu buněk na době skladování. Počet buněk v čase 0 je znázorněn jako koncentrace zaočkovaných buněk (tj. $1,08 \cdot 10^6$ CFU v 16 ml vzorku, což je $6,77 \cdot 10^4$ CFU/ml). Až do 14. dne lze pozorovat nárůst koncentrace, poté nastává pokles a stagnace koncentrace buněk. Pro zachování co největšího počtu probiotických bakterií je tedy vhodné neskladovat výrobky déle než 14 dní.

Data získaná z cytometru byla dále použita k ověření podobnosti mezi duplikáty. Byl proveden párový T-test, kde byla potvrzena signifikantní ($p = 0,05$) podobnost duplikátů a k tvorbě grafu byl použit průměr hodnot a jejich směrodatná odchylka výběru.

Všechny vzorky splňovaly definici probiotického výrobku (obsahovaly alespoň 10^6 CFU/g hotového výrobku [8]). Největší pravděpodobnost obsahu viabilních probiotik měl vzorek JHM, kde byla viabilita buněk ověřena kultivačním testem (výsledky jsou uvedeny v kapitole 5.3.3.1).

Budeme-li uvažovat porci jako 200 ml šťávy, bude vzorek s nejvyšší koncentrací buněk obsahovat $8,33 \cdot 10^{10} \pm 6,85 \cdot 10^7$ CFU probiotika, což splňuje podmínku GRAS pro *Lactobacillus plantarum* Lp-115 ($5 \cdot 10^{11}$ CFU/porci) a 299v ($1 \cdot 10^{11}$ CFU/porci) [27, 28].

Průměr počtu buněk v prvním týdnu ($1,85 \cdot 10^8$ – $2,66 \cdot 10^8$ CFU/ml) odpovídal počtu buněk stanovených v prvním týdnu u vzorků zelných šťáv s obsahem *L. plantarum* ($2,09 \cdot 10^8$ CFU/ml), v druhém týdnu ($2,49 \cdot 10^8$ – $4,17 \cdot 10^8$ CFU/ml) je však výrazně vyšší ($5,02 \cdot 10^7$ CFU/ml) [48]. To mohlo souviset s vyšším obsahem sacharidů (původem z ovocných a zeleninových přidaných šťáv), což mohlo způsobit nárůst počtu buněk [59].



Obrázek 46 Vliv doby skladování džusů na koncentraci buněk přidaného probiotika

5.3.3.1 Kultivační test

Předpokladem tohoto testování bylo, že po požití probiotické ovocno-zeleninové šťávy dojde následně ke kolonizaci tlustého střeva, kde jsou pro mikroorganismy střevní mikroflóry ideální podmínky [21].

Kultivačním testem byla na konci pozorování stability (tj. po 30 dnech skladování při 8 °C) ověřena viabilita přidaných probiotik po ustanovení ideálních podmínek (MRS broth médium, teplota 37 °C, 24 hodin), a to pozorováním změny zákalu (nárustu buněk) před začátkem kultivace a po 24 hodinách kultivace. Vzorky s přidaným probiotikem byly také porovnány s kontrolním vzorkem bez probiotika, skladovaným po stejnou dobu při stejné teplotě. Postup stanovení je popsán v kapitole 3.9.1. Výsledky kultivačního testu jsou uvedeny v tabulce 22.

Největší rozdíl mezi vzorkem a kontrolním vzorkem je u směsi JHM, lze tedy předpokládat, že viabilita probiotik zůstala u tohoto vzorku největší. Obsažené probiotické bakterie byly schopny za optimálních podmínek zvýšit svůj počet a lze usoudit, že po 30 dnech skladování při 8 °C by mohl tento probiotický ovocno-zeleninový produkt mohl vykazovat probiotické účinky. Vzorek JHM se od ostatních liší zejména vyšším pH (výsledky jsou uvedeny v kapitole 5.3.4), což mohlo mít vliv na zachování probiotik ve vzorku. Paradoxně vzorek JHM obsahoval nejmenší koncentraci probiotických buněk (výsledky jsou uvedeny v kapitole 5.3.3).

Tabulka 22 Kultivační test. Rozdíly absorbancí po 24 hodinách, pro vzorky s probiotikem a kontrolní vzorky (označeny písmenem K) bez probiotika. Velikost změny je zvýrazněna barevnou škálou.

Vzorek	$\Delta A_{600 \text{ nm}} (-)$	Vzorek	$\Delta A_{600 \text{ nm}} (-)$
R	0,016±0,013	RK	0,017±0,013
J	0,089±0,011	JK	0,091±0,008
RH	0,058±0,022	RHK	0,050±0,023
JHM	0,151±0,077	JHMK	0,083±0,011

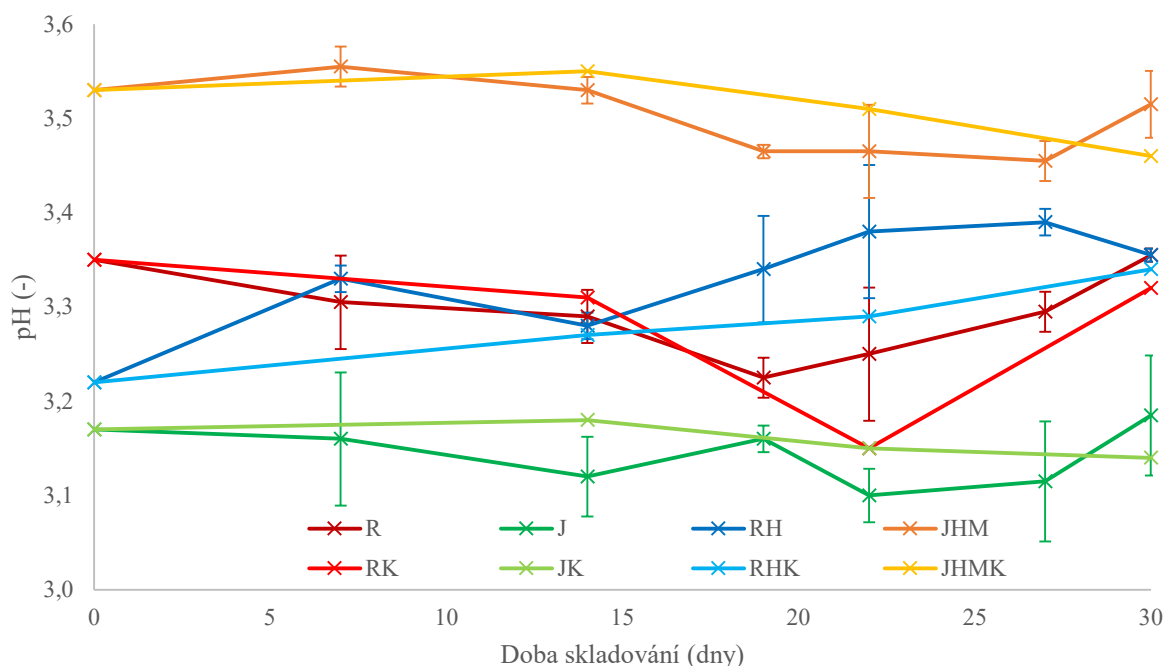
5.3.4 Stanovení pH

Měření pH proběhlo dle postupu v experimentální části této práce (3.10). Průměr a směrodatná odchylka výběru byly vypočteny z duplikátů u vzorků s obsahem probiotika.

Na obrázku 47 je patrná závislost pH na době skladování. Je třeba uvést, že z praktických důvodů byly měřeny všechny vzorky zároveň po ukončení experimentu, vzorky byly uchovávány zmražené.

pH se během experimentu změnilo pouze minimálně: největší hodnota byla ve vzorcích JHM a kontrolních vzorcích JHMK, nejmenší pak ve vzorcích J a kontrolních vzorcích JK. Naměřené hodnoty pH neodpovídají naměřeným hodnotám kyseliny mléčné a L-askorbové (tj. vzorek JHM má nejvyšší pH, ale i nejvyšší hodnoty kyseliny mléčné a L-askorbové), což naznačuje možnou přítomnost dalších látek ovlivňujících pH.

Stanovené pH se příliš nelišilo od pH stanoveného u vzorků zelených šťáv obohacených o *L. plantarum* (první týden: 3,34, druhý týden: 3,32) [48]. Mírné rozdíly se vyskytly z důvodu přidavku ovocných a zeleninových šťáv v různém poměru.



Obrázek 47 Vliv doby skladování na pH. Kontrolní vzorky bez přidavku probiotika jsou označeny písmenem K.

6 ZÁVĚR

V rámci této diplomové práce byly řešeny možnosti vývoje ovocno-zeleninových šťáv s obsahem zelné šťávy, charakterizace jejich nutričních a sensorických kvalit a jejich stabilita. Hlavním cílem bylo rozvedení možností obohacení těchto šťáv o probiotikum ve formě *Lactobacillus plantarum* a sledování jejich stability, čímž tato práce navázala na diplomovou práci Ing. Barbory Vašků [48].

Pro účely experimentu byly vybrány 100% ovocné, zeleninové a ovocno-zeleninové šťávy ze surovin typických pro střední Evropu. Konkrétně šlo o jablečnou, hruškovou, jablečno-řepnou a mrkvovou šťávu. Tyto šťávy byly v různém poměru míchány se zelnou šťávou za účelem vytvoření spotřebitelsky přijatelného produktu.

Vytvořené směsi šťáv byly podrobeny sensorické analýze. Účelem sensorické analýzy bylo charakterizovat kvality šťáv a vybrat nejlepší druhy k další analýze. Sensorická analýza probíhala ve dvou kolech, prvního kola se zúčastnilo 16 hodnotitelů, v druhém pak 17 hodnotitelů. Nejlépe hodnocenými vzorky byly R2 (jablečno-řepná šťáva 66,6 %, zelná šťáva 33,3 %) a RH (jablečno-řepná šťáva 33,3 %, hrušková šťáva 33,3 %, zelná šťáva 33,3 %), nejhůře naopak vzorky M1 (mrkvová šťáva 50 %, zelná šťáva 50 %) a RM (jablečno-řepná šťáva 33,3 %, mrkvová šťáva 33,3 %, zelná šťáva 33,3 %). Pomocí statistické analýzy byly také zjištěny preference hodnotitelů: byly preferovány vzorky s menším obsahem zelné šťávy, pozitivně hodnocení ovlivňovala zejména sladká a ovocná chuť vzorku, společně s celkovým vjemem chuti; výrazný negativní vliv měla kyselá chuť.

Vzorky s nejvyšším hodnocením, tj. J2 (jablečná šťáva 66,6 %, zelná šťáva 33,3 %), R2 (jablečno-řepná šťáva 66,6 %, zelná šťáva 33,3 %), RH (jablečno-řepná šťáva 33,3 %, hrušková šťáva 33,3 %, zelná šťáva 33,3 %) a JHM (jablečná šťáva 25 %, hrušková šťáva 25 %, mrkvová šťáva 25 %, zelná šťáva 25 %) byly obohaceny o probiotickou kulturu *Lactobacillus plantarum* CCM 7039. Takto obohacené vzorky byly společně s kontrolními vzorky bez přidaného probiotika monitorovány po dobu jednoho měsíce, sledovány byly parametry: pH, koncentrace probiotických buněk, antioxidační aktivita, celkové flavonoidů a polyfenoly, celkové a redukující ve vodě rozpustné sacharidy, kyselina L-askorbová a kyselina mléčná. V závěru byla ověřena viabilita probiotik pomocí kultivačního testu.

Antioxidační aktivita a celkový obsah polyfenolů se během pozorování příliš neměnili. Naopak k výrazným změnám docházelo u obsahu celkových a redukujících sacharidů, u kterých bylo maximum naměřeno 14. den skladování. Výkyvy mohly být způsobeny probíhajícím metabolickým rozkladem sacharidů, nebo naopak syntézou exopolysacharidů. K výrazným změnám docházelo též u celkového obsahu flavonoidů, kde však maximum bylo v 7. den skladování. K menším změnám docházelo u fruktosy a kyseliny L-askorbové a mléčné.

pH se během skladování výrazně neměnilo. Největší koncentrace buněk byla pomocí průtokového cytometru naměřena ve 14. dnu skladování, poté došlo k poklesu. Z hlediska zachování co největšího obsahu probiotika by bylo vhodné probioticky obohacené šťávy skladovat při teplotě 8 °C maximálně 14–19 dnů. Po 30. dni skladování byla nejvyšší viabilita pozorována u vzorku JHM, i když obsahoval nejmenší koncentraci buněk. Vliv na vyšší viabilitu mělo zřejmě pH, které bylo ze všech vzorků nejvyšší.

U vzorku JHM (jablečná, hrušková, mrkvová a zelná šťáva ve stejném poměru) byla pozorována nejvyšší viabilita po 30. dni stanovení. Koncentrace buněk byla ve srovnání s dalšími vzorky po celou dobu nejnižší (nejvyšší hodnoty dosáhla 14. den skladování, a sice $2,49 \cdot 10^8 \pm 0,32 \cdot 10^8$ CFU/ml), naopak pH bylo nejvyšší ($3,53 \pm 0,01$ ve 14. den), Vzorek též obsahoval nejvyšší podíl přidaných ovocných a zeleninových šťáv (75 %), což souviselo s nejvyšším obsahem kyseliny L-askorbové (ve 14. den činilo $0,82 \pm 0,08$ mg/ml).

U vzorku R2 (jablečno-řepná a zelná šťáva v poměru 2 : 1) nebyla kultivačním testem na konci testování dlouhodobé stability potvrzena životaschopnost probiotické kultury. Avšak v průběhu experimentu byla u tohoto vzorku naměřena nejvyšší koncentrace buněk (nejvyšší hodnota ve 14. den skladování byla $4,166 \cdot 10^8 \pm 0,003 \cdot 10^8$ CFU/ml), pH ve 14. dni skladování bylo stanoveno jako $3,29 \pm 0,03$. Proto by u tohoto druhu šťávy bylo vhodné doporučit kratší dobu trvanlivosti za účelem zachování vyššího počtu životaschopných probiotických buněk, a tedy probiotických účinků.

Navzdory zjištěné nízké viabilitě probiotické kultury, zůstávají tyto navrhované funkční potraviny nutričně, chuťově i vzhledově zajímavými produkty, které mohou napomoci k popularizaci konzumace netradičních lokálních potravin.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation* [online], 2003. Geneva: World Health Organisation [cit. 2023-04-28]. ISBN 924120916X. Dostupné z: <https://www.who.int/publications/i/item/924120916X>
- [2] Spotřeba potravin 2021, 2022. *Český statistický úřad* [online]. [cit. 2023-04-28]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/spotreba-potravin-2021>
- [3] PEÑAS, Elena, Cristina MARTINEZ-VILLALUENGA a Juana FRIAS, ed., 2017. Sauerkraut: Production, Composition, and Health Benefits. In: FRIAS, Juana, Cristina MARTINEZ-VILLALUENGA a Elena PEÑAS. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. London: Academic Press, s. 557-576. ISBN 978-0-12-802309-9.
- [4] ORGERON II, Ryan Paul, Angela CORBIN a Brigett SCOTT, 2016. Sauerkraut: A Probiotic Superfood. *Functional Foods in Health and Disease*. 6(8), 536-543. ISSN 23787007. Dostupné z: doi:10.31989/ffhd.v6i8.262
- [5] Superfood. In: *Merriam-Webster.com Dictionary* [online]. Merriam-Webster [cit. 2023-03-04]. Dostupné z: <https://www.merriam-webster.com/dictionary/superfood>
- [6] Vegetables, 2002. In: *McCance and Widdowson's The Composition of Foods*. Edition 6. Cambridge: Royal Society of Chemistry, s. 237-289. ISBN 978-0-85404-428-3.
- [7] SCHILLINGER, Ulrich a Hebert J. BUCKENHÜSKES, HOLZAPFEL, Wilhelm, ed., 2003. Sauerkraut. In: FARNWORTH, Edward R. *Handbook of Fermented Functional Foods*. CRC Press, s. 343-360. ISBN 0-8493-1372-4.
- [8] BEGANOVIĆ, Jasna, Andreja Leboš PAVUNC, Krešimir GJURAČIĆ, Marina ŠPOLJAREC, Jagoda ŠUŠKOVIĆ a Blaženka KOS, 2011. Improved Sauerkraut Production with Probiotic Strain *Lactobacillus plantarum* L4 and *Leuconostoc mesenteroides* LMG 7954. *Journal of Food Science*. 76(2), M124-M129. ISSN 00221147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1750-3841.2010.02030.x
- [9] PODSEDEK, Anna, 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science and Technology*. 40(1), 1-11. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2005.07.0263
- [10] ELLULU, Mohammed S., Asmah RAHMAT, Patimah ISMAIL, Huzwah KHAZA'AI a Yehia ABED, 2015. Effect of vitamin C on inflammation and metabolic markers in hypertensive and/or diabetic obese adults: a randomized controlled trial. *Drug Design, Development and Therapy*. (9), 3405-3412. ISSN 1177-8881. Dostupné z: doi:10.2147/DDDT.S83144
- [11] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ, 2009. *Chemie potravin*. 3. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [12] MANESH, C. a G. KUTTAN, 2003. Anti-tumour and anti-oxidant activity of naturally occurring isothiocyanates. *JOURNAL OF EXPERIMENTAL & CLINICAL CANCER RESEARCH*. 22(2), 193-199. ISSN 1756-9966.

- [13] HECHT, STEPHEN S., 2000. INHIBITION OF CARCINOGENESIS BY ISOTHIOCYANATES. *Drug Metabolism Reviews*. **32**(3-4), 395-411. ISSN 0360-2532. Dostupné z: doi:10.1081/DMR-100102342
- [14] RADA, Vojtěch, 2010. Využití probiotik, prebiotik a synbiotik. *Interní medicína pro praxi*. **12**(2), 92-97. ISSN 1803-5256.
- [15] BEGANOVIĆ, Jasna, Blaženka KOS, Andreja LEBOŠ PAVUNC, Ksenija UROIĆ, Mladen JOKIĆ a Jagoda ŠUŠKOVIĆ, 2014. Traditionally produced sauerkraut as source of autochthonous functional starter cultures. *Microbiological Research*. **169**(7-8), 623-632. ISSN 09445013. Dostupné z: doi:10.1016/j.micres.2013.09.015
- [16] FENG, Junchang, Pulong LIU, Xin YANG a Xin ZHAO, 2015. Screening of immunomodulatory and adhesive Lactobacillus with antagonistic activities against Salmonella from fermented vegetables. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. **31**(12), 1947-1954. ISSN 0959-3993. Dostupné z: doi:10.1007/s11274-015-1939-6
- [17] Test kysaného zelí 2018, 2018. *DTest* [online]. Praha, (2) [cit. 2023-03-04]. ISSN 1210-731X. Dostupné z: <https://www.dtest.cz/clanek-6430/test-kysaneho-zeli-2018>
- [18] ČIHÁKOVÁ, Jana a Dana GABROVSKÁ, 2021. Test kysaného zelí: Elixír zdraví?. *CZ TEST* [online]. Praha [cit. 2023-03-04]. Dostupné z: <https://www.cz-test.cz/clanek/test-kysaneho-zeli-elixir-zdravi>
- [19] WIANDER, B. a A. PALVA, 2011. Sauerkraut and sauerkraut juice fermented spontaneously using mineral salt, garlic and algae. *Agricultural and Food Science*. **20**(2), 169-174. ISSN 1795-1895. Dostupné z: doi:10.2137/145960611797215718
- [20] HRUDKOVÁ, Alena a Josef MARKVART, 1989. *Nealkoholické nápoje*. Praha: SNTL. Redakce literatury potravinářského průmyslu.
- [21] LAHTINEN, Sempo, Arthur C. OUWEHAND, Seppo SALMINEN a Atte VON WRIGHT, 2012. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 4. edition, Boca Raton: CRC Press. ISBN 978-1-4398-3677-4.
- [22] FELLOWS, P., 2000. *Food Processing Technology: Principles and Practice*. 2. Cambridge: Woodhead Publishing. ISBN 9780081019078.
- [23] ŠUŠKOVIĆ, Jagoda, Blaženka KOS, Srećko MATOŠIĆ a Vladimir MARIĆ, 1997. Probiotic Properties of Lactobacillus plantarum L4. *Food Technology and Biotechnology*. **35**(2), 107-112. ISSN 1330-9862.
- [24] MATEJČEKOVÁ, Zuzana, Denisa LIPTÁKOVÁ, Sabína SPODNIÁKOVÁ a Ľubomír VALÍK, 2016. Characterization of the growth of Lactobacillus plantarum in milk in dependence on temperature. *Acta Chimica Slovaca*. **9**(2), 104-108. ISSN 1337-978X. Dostupné z: doi:10.1515/acs-2016-0018

- [25] GRN No. 953: *Lactobacillus plantarum* strain CECT 7527, CECT 7528, and CECT 7529, 2021. *U.S. Food & Drug Administration* [online]. Silver Spring, 2021-02-05 [cit. 2023-03-11]. Dostupné z: <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=953>
- [26] GRN No. 847: *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402, 2019. *U.S. Food & Drug Administration* [online]. Silver Spring, 2019-09-30 [cit. 2023-03-11]. Dostupné z: <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=847>
- [27] GRN No. 722: *Lactobacillus plantarum* Lp-115, 2018. *U.S. Food & Drug Administration* [online]. Silver Spring, 2018-02-16 [cit. 2023-03-11]. Dostupné z: <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=722>
- [28] GRN No. 685: *Lactobacillus plantarum* strain 299v, 2017. *U.S. Food & Drug Administration* [online]. Silver Spring, 2017-10-31 [cit. 2023-03-11]. Dostupné z: <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=685>
- [29] ČESKÁ REPUBLIKA, 2018. Vyhláška č. 248/2018 Sb.: o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. In: *Sbírka zákonů*. ročník 2018, 125/2018. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248/zneni-20181201>
- [30] KADLEC, Pavel, 2002. *Technologie potravin*. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-708-0509-9.
- [31] DRDÁK, Milan, 1989. *Technológia rastlinných neúdržných potravín*. 1. Bratislava: Alfa. ISBN 80-050-0121-5.
- [32] SHARMA, Krishan Datt, Swati KARKI, Narayan Singh THAKUR a Surekha ATTRI, 2012. Chemical composition, functional properties and processing of carrot—a review. *Journal of Food Science and Technology*. **49**(1), 22-32. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-011-0310-7
- [33] CANDRAWINATA, Vincent I., John B. GOLDING, Paul D. ROACH a Costas E. STATHOPOULOS, 2013. From Apple to Juice—The Fate of Polyphenolic Compounds. *Food Reviews International*. **29**(3), 276-293. ISSN 8755-9129. Dostupné z: doi:10.1080/87559129.2013.790049
- [34] Test jablečných džusů a moštů 2014, 2014. *DTest* [online]. Praha, (10) [cit. 2023-03-05]. ISSN 1210-731X. Dostupné z: <https://www.dtest.cz/clanek-3828/test-jablecnych-dzusu-a-mostu-2014>
- [35] E162 – Betanin. *FÉR potravina* [online]. Praha [cit. 2023-03-07]. Dostupné z: <https://www.ferpotravina.cz/seznam-ecek/E162>
- [36] DAS, Sayantane, Scott M. FILIPPONE, Denise S. WILLIAMS, Anindita DAS a Rakesh C. KUKREJA, 2016. Beet root juice protects against doxorubicin toxicity in cardiomyocytes while enhancing apoptosis in breast cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*. **421**(1-2), 89-101. ISSN 0300-8177. Dostupné z: doi:10.1007/s11010-016-2789-8

- [37] STAFFORD, Helen A., 1994. Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways. *Plant Science*. **101**(2), 91-98. ISSN 01689452. Dostupné z: doi:10.1016/0168-9452(94)90244-5
- [38] SAEEDUDDIN, Muhammad, Muhammad ABID, Saqib JABBAR, et al., 2016. Physicochemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of sonicated pear juice. *International Journal of Food Science & Technology*. **51**(7), 1552-1559. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.13124
- [39] TANRIOVEN, D a A EKSI, 2005. Phenolic compounds in pear juice from different cultivars. *Food Chemistry*. **93**(1), 89-93. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2004.09.009
- [40] MARKOWSKI, Jarosław, Monika ZBRZEŹNIAK, Monika MIESZCZAKOWSKA-FRAĆ, Krzysztof RUTKOWSKI a Wioletta POPIŃSKA, 2012. Effect of cultivar and fruit storage on basic composition of clear and cloudy pear juices. *LWT - Food Science and Technology*. **49**(2), 263-266. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2012.06.024
- [41] ČSN EN ISO 5495: *Senzorická analýza – Metodologie – Párová porovnávací zkouška*, 2009. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- [42] ČSN ISO 8587: *Senzorická analýza – Metodologie – Pořadová zkouška*, 2008. Praha: Český normalizační institut.
- [43] ZHONG, Ying Joy a Fereidoon SHAHIDI, 2015. 12 - Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In: SHAHIDI, Fereidoon, ed. *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. 1. Woodhead Publishing, s. 287-333. ISBN 978-1-78242-089-7.
- [44] AGBOR, Gabriel A., Joe A. VINSON a Patrick E. DONNELLY, 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*. 147-156. ISSN 23263350. Dostupné z: doi:10.19070/2326-3350-1400028
- [45] FATTAHI, Sadegh, Ebrahim ZABIHI, Zeinab ABEDIAN, Roghayeh POURBAGHER, Ali Motevalizadeh ARDEKANI, Amrollah MOSFADEZEH a Haleh AKHAVAN-NIAKI, 2014. Total Phenolic and Flavonoid Contents of Aqueous Extract of Stinging Nettle and In Vitro Antiproliferative Effect on Hela and BT-474 Cell Lines. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*. **3**(2), 102-107. ISSN 22519645.
- [46] KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ, 2005. *Laboratorní techniky biochemie*. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-708-0586-2.
- [47] ČOPÍKOVÁ, Jana, 1997. *Chemie a analytika sacharidů*. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-708-0306-1.
- [48] VAŠKŮ, Barbora. Testování faktorů ovlivňujících stabilitu a spotřebitelskou přijatelnost nálevu z kysaného zelí. Brno, 2022. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Ivana Márová. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zavprace/detail/139332>.

- [49] JANSONE, Liene a Solvita KAMPUSE, 2019. Comparison of chemical composition of fresh and fermented cabbage juice. In: *FOODBALT 2019 13th Baltic Conference on Food Science and Technology "FOOD. NUTRITION. WELL-BEING."* and *NEEFOOD 2019 5th North and East European Congress on Food*. Jelgava: LLU, Faculty of Food Technology, 2019-05-02, s. 160-164. ISBN 2501-0109. ISSN 978-9984-48-317-7. Dostupné z: doi:10.22616/FoodBalt.2019.028
- [50] KOLNIAK-OSTEK, Joanna, Dagmara KŁOPOTOWSKA, Krzysztof P. RUTKOWSKI, Anna SKORUPIŃSKA a Dorota E. KRUCZYŃSKA, 2020. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Pear (*Pyrus communis* L.) Fruits. *Molecules*. **25**(19). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25194444
- [51] BOYER, Jeanelle a Rui Hai LIU, 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*. **3**(1). ISSN 1475-2891. Dostupné z: doi:10.1186/1475-2891-3-5
- [52] PŁATOSZ, Natalia, Tomasz SAWICKI a Wiesław WICZKOWSKI, 2020. Profile of Phenolic Acids and Flavonoids of Red Beet and Its Fermentation Products. Does Long-Term Consumption of Fermented Beetroot Juice Affect Phenolics Profile in Human Blood Plasma and Urine?. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. **70**(1), 55-65. ISSN 1230-0322. Dostupné z: doi:10.31883/pjfns/116613
- [53] SINGH, B. K., T. K. KOLEY, Arti MAURYA, P. M. SINGH a B. SINGH, 2018. Phytochemical and antioxidative potential of orange, red, yellow, rainbow and black coloured tropical carrots (*Daucus carota* subsp. *sativus* Schubl. & Martens). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. **24**(5), 899-907. ISSN 0971-5894. Dostupné z: doi:10.1007/s12298-018-0574-8
- [54] WANG, Yang, Yanping WU, Yuanyuan WANG, Han XU, Xiaoqiang MEI, Dongyou YU, Yibing WANG a Weifen LI, 2017. Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients*. **9**(5). ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu9050521
- [55] SHARMA, Rohit, Bhawna DIWAN, Brij Pal SINGH a Saurabh KULSHRESTHA, 2022. Probiotic fermentation of polyphenols: potential sources of novel functional foods. *Food Production, Processing and Nutrition*. **4**(1). ISSN 2661-8974. Dostupné z: doi:10.1186/s43014-022-00101-4
- [56] LEE, Moeun, Jung Hee SONG, Eun Ji CHOI, Ye-Rang YUN, Ki Won LEE a Ji Yoon CHANG, 2021. UPLC-QTOF-MS/MS and GC-MS Characterization of Phytochemicals in Vegetable Juice Fermented Using Lactic Acid Bacteria from Kimchi and Their Antioxidant Potential. *Antioxidants*. **10**(11). ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox10111761
- [57] WEICHMANN, J., 1987. *Postharvest physiology of vegetables*. 24. New York: NY Marcel Dekker. ISBN 08-247-76011.

[58] SILVA, Liliane Andrade, Jose Honorio Pereira LOPES NETO a Haíssa Roberta CARDARELLI, 2019. Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum*: technological properties, biological activity, and potential application in the food industry. *Annals of Microbiology*. **69**(4), 321-328. ISSN 1590-4261. Dostupné z: doi:10.1007/s13213-019-01456-9

[59] GEORGIEVA, R., P. KOLEVA, D. NIKOLOVA, D. YANKOV a S. DANOVA, 2014. Growth Parameters of Probiotic Strain *Lactobacillus Plantarum*, Isolated from Traditional White Cheese. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. **23**(sup1), 861-865. ISSN 1310-2818. Dostupné z: doi:10.1080/13102818.2009.10818558

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AAS	atomová absorpční spektrometrie
ABTS	2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová kyselina)
ADP	adenosindiphosphate, adenosindifosfát
aj.	a jiné
ANOVA	analysis of variance, analýza rozptylu
ATP	adenosintriphosphate, adenosintrifosfát
BMK	bakterie mléčného kvašení
CoA	koenzym A
convar.	kulturní varieta
DAD	diode array detector, detektor s diodovým polem
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay, stanovení pomocí imunosorbentů s vázanými enzymy
EMP	Embden–Meyerhof–Parnasova dráha
GC/FID	plynová chromatografie s plamenoionizačním detektorem
GC/MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
GRAS	generally recognised as safe, obecně považovaný jako bezpečný
HMP	hexosomonofosfátová dráha
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou
LDL	nízkodenzitní lipoprotein
LC/MS/MS	kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií
MO	mikroorganismus
NAD	nikotinamidadeninukleotid
NADH + H ⁺	redukovaný nikotinamidadeninukleotid
např.	například
p.a.	pro analysis, v čistotě vhodné pro analýzu
PCA	principle components analysis, analýza hlavních komponent
příp.	případně

RI	refrakční index, refraktometrický detektor
ROS	reactive oxygen substance, reaktivní kyslíkový metabolit
SPME	solid phase microextraction, mikroextrakce na tuhou fázi
spp.	subspecie, poddruh
tj.	to je
tzv.	takzvaný
UV	oblast ultrafialového záření
Vis	oblast viditelného záření
WHO	World Health Organisation, Světová zdravotnická organizace

9 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 Dotazník k sensorické analýze (1. část)	86
Příloha 2 Dotazník k sensorické analýze (2. část)	88
Příloha 3 Nutriční složení mrkvových šťáv dostupných na českém trhu.....	90
Příloha 4 Nutriční složení řepných šťáv dostupných na českém trhu	90
Příloha 5 Nutriční složení hruškových šťáv dostupných na českém trhu	91
Příloha 6 Nutriční složení zelných šťáv dostupných na českém trhu.....	92
Příloha 7 HPLC chromatogram pro vzorek RH3b, UV-Vis detekce	94

10 PŘÍLOHY

Příloha 1 Dotazník k senzorické analýze (1. část)

Senzorická analýza směsných ovocno-zeleninových šťáv

Údaje o respondentovi

Pohlaví:

- Žena
- Muž
- Nechci uvést

Věk:

- Méně než 20 let
- 20–29 let
- 30 – 39 let
- 40 – 49 let
- 50 – 59 let
- Více než 60 let

Váš vztah ke kysanému zelí:

- Mám ho rád, jím ho často
- Nevadí mi, jím ho občas
- Nevadí mi, jím ho zřídka
- Nemám ho rád, nejím ho

Profilové testy

Dle příjemnosti ohodnoťte na stupnici 1–5 (5 = nejhorší, 1 = nejlepší, jako ve škole) předložené vzorky.

Hodnocení barvy – 1 = velmi příjemná barva, lákající ke konzumaci; 5 = odpudivá barva, odrazující od konzumace; šťáva může obsahovat zákal či sediment, který není vadou (hodnoťte dle vaší preference výskytu zákalu či sedimentu)

Hodnocení vůně – 1 = velmi příjemná vůně, lákající ke konzumaci; 5 = odpudivá vůně, odrazující od konzumace,

Hodnocení konzistence – 1 = příjemná konzistence v ústech; 5 = nepříjemná konzistence v ústech; šťáva může obsahovat zákal či sediment, který není vadou (hodnoťte dle vaší preference výskytu zákalu či sedimentu)

Hodnocení chuti – 1 = velmi příjemná chuť; 5 = odpudivá chuť

V případě potřeby můžete použít deskriptor „jiné“, v takovém případě deskriptor blíže specifikujte.

Vzorek	Barva	Vůně	Konzistence	Chuť	Jiné
T6J					
L8U					
F0S					
D5A					
E3R					
H7K					
Q2P					
M1O					

Dle intenzity (nikoliv podle příjemnosti) ohodnoťte na stupnici 1–5 (1 = nejméně intenzivní, 5 = nejvíce intenzivní, např. 1 = neslaný, 5 – velmi slaný, přesolený) předložené vzorky. V případě potřeby můžete použít deskriptor „jiné“, v takovém případě deskriptor blíže specifikujte.

Vzorek	Chuť						
	Sladká	Hořká	Kyselá	Slaná	Ovocná	Trpká	Jiná
T6J							
L8U							
F0S							
D5A							
E3R							
H7K							
Q2P							
M1O							

Párové porovnávací zkoušky

Ze dvou předložených vzorků vyberte celkově lepší vzorek a označte ho křížkem. V úvahu ve svém hodnocení berte **pouze tyto dva předložené vzorky**.

Vzorek	Lepší?	Vzorek	Lepší?
T6J		H7K	
Q2P		F0S	
M1O		E3R	
D5A		L8U	

Pořadová zkouška

Ohodnoťte všechny předložené vzorky dle Vaší preference (1 = nejhorší, 8 = nejlepší). Hodnocení se nesmí opakovat.

Vzorek	T6J	L8U	F0S	D5A	E3R	H7K	Q2P	M1O
Hodnocení								

Senzorická analýza směsných ovocno-zeleninových šťáv 2

Údaje o respondentovi

Pohlaví:

- Žena
- Muž
- Nechci uvést

Věk:

- Méně než 20 let
- 20–29 let
- 30 – 39 let
- 40 – 49 let
- 50 – 59 let
- Více než 60 let

Váš vztah ke kysanému zelí:

- Mám ho rád, jím ho často
- Nevadí mi, jím ho občas
- Nevadí mi, jím ho zřídka
- Nemám ho rád, nejím ho

Profilové testy

Dle příjemnosti ohodnoťte na stupnici 1–5 (5 = nejhorší, 1 = nejlepší, jako ve škole) předložené vzorky.

Hodnocení barvy – 1 = velmi příjemná barva, lákající ke konzumaci; 5 = odpudivá barva, odrazující od konzumace; šťáva může obsahovat zákal či sediment, který není vadou (hodnoťte dle vaší preference výskytu zákalu či sedimentu)

Hodnocení vůně – 1 = velmi příjemná vůně, lákající ke konzumaci; 5 = odpudivá vůně, odrazující od konzumace,

Hodnocení chuti – 1 = velmi příjemná chuť; 5 = odpudivá chuť

V případě potřeby můžete použít deskriptor „jiné“, v takovém případě deskriptor blíže specifikujte.

Vzorek	Barva	Vůně	Chuť	Jiné
T6J				
L8U				
F0S				
D5A				
E3R				
Q2P				
M1O				

Dle intenzity (nikoliv podle příjemnosti) ohodnoťte na stupnici 1–5 (1 = nejméně intenzivní, 5 = nejvíce intenzivní, např. 1 = neslaný, 5 – velmi slaný, přesolený) předložené vzorky. V případě potřeby můžete použít deskriptor „jiné“, v takovém případě deskriptor blíže specifikujte.

Vzorek	Chuť						
	Sladká	Hořká	Kyselá	Slaná	Ovocná	Trpká	Jiná
T6J							
L8U							
F0S							
D5A							
E3R							
Q2P							
M1O							

Pořadová zkouška

Ohodnoťte všechny předložené vzorky dle Vaší preference (1 = nejhorší, 8 = nejlepší). Hodnocení se nesmí opakovat.

Vzorek	T6J	L8U	F0S	D5A	E3R	Q2P	M1O
Hodnocení							

Příloha 3 Nutriční složení mrkvových šťáv dostupných na českém trhu

Složka	Jednotka	Obsah				
		Albert ¹	dmBio ²	Stará Dáma ³	Rio (1) ⁴	Rio (2) ⁵
Energetická hodnota	kcal/100 ml	29	32	26	37	37
	kJ/100 ml	124	136	109	155	155
Tuky	g/100 ml	0,1	0,1	0,06	0,2	0,5
z toho nasycené mastné kyseliny		0,02	0,1	0,007	0,2	0,1
Sacharidy		6,4	6,7	5,5	7,5	7,5
z toho cukry		6	6,8	5,3	7,5	7,5
Bílkoviny		0,7	1	0,62	1,5	1,5
Sůl		0,1	0,13	0,06	0,01	0,01

Příloha 4 Nutriční složení řepných šťáv dostupných na českém trhu

Složka	Jednotka	Obsah		
		dmBio ⁶	Stará Dáma ⁷	Hasenfit ⁸
Energetická hodnota	kcal/100 ml	42	40	37
	kJ/100 ml	177	168	155
Tuky	g/100 ml	0,1	0,1	0,1
z toho nasycené mastné kyseliny		0,1	0	0,04
Sacharidy		9,2	8	8
z toho cukry		9,2	7,6	8
Bílkoviny		1	1,5	0,5
Sůl		0	0,15	0,15
Vláknina		0,1	0	0,1

¹ Albert Čerstvá šťáva mrkev. <https://www.albertdomuzdarma.cz/shop/Napoj/Dzusy-nektary-a-ovocne-napoj/Chlazene-stavy-dzusy-a-smoothie/Albert-Cerstva-stava-mrkev/p/27193990>

² dmBio Mrkvová šťáva. <https://www.dm.cz/dmbio-mrkvova-stava-p4058172218040.html>

³ Stará Dáma – Mrkvová šťáva. <https://www.proudzdravi.cz/stara-dama-mrkvova-stava-0-7-1>

⁴ Rio Cold Press 100% karotka. <https://www.rohlik.cz/1317883-rio-cold-press-100-stava-karotkova>

⁵ Rio Cold Press 100% karotka. <https://nakup.itesco.cz/groceries/cs-CZ/products/2001018273613>

⁶ dmBio Šťáva z červené řepy. <https://www.dm.cz/dmbio-stava-z-cervene-repy-p4058172218002.html>

⁷ Stará dáma – Šťáva z červené řepy. <https://www.proudzdravi.cz/stara-dama-stava-z-cervene-repy-1000-ml>

⁸ Hasenfit – Šťáva z červené řepy. <https://stavy.heureka.cz/hasenfit-stava-z-cervene-repy-100-bio-1-l/#specifikace/>

Příloha 5 Nutriční složení hruškových šťáv dostupných na českém trhu

Složka	Jednotka	Obsah			
		Stará Dáma ⁹	Pfanner ¹⁰	Albert ¹¹	Rio ¹²
Energetická hodnota	kcal/100 ml	40	56	48	45
	kJ/100 ml	169	194	203	190
Tuky	g/100 ml	0,1	0,5	0,1	0,1
z toho nasycené mastné kyseliny		0,01	0,1	0	0,1
Sacharidy		9,8	11	12	11,2
z toho cukry		8,3	11	8,4	11,2
Bílkoviny		0,2	0,5	0,2	0,1
Sůl		0,05	0,01	0	0,1

⁹ Stará Dáma – Hrušková šťáva. <https://www.proudzdрави.cz/hruskova-stava-prirodne-zakalena-0-7-l>

¹⁰ Pfanner – Hrušková šťáva. <https://www.pfanner.cz/Module/SFA/Eshop/Product.aspx?Id=1f6614ed-9125-4086-870c-60588dc69712>

¹¹ Albert Čerstvá šťáva hruška. <https://www.albertdomuzdarma.cz/shop/Napojje/Dzussy-nektary-a-ovocne-napojje/Chlazene-stavy-dzussy-a-smoothie/Albert-Cerstva-stava-hruska/p/27193709>

¹² Rio Cold Press 100% hruška. <https://nakup.itesco.cz/groceries/cs-CZ/products/2001019286742>

Příloha 6 Nutriční složení zelných šťáv dostupných na českém trhu

Vzorek	Energetická hodnota		Tuky (g/100 ml)	Nasycené mastné kyseliny (g/100 ml)	Sacharidy (g/100 ml)	Cukry (g/100 ml)	Bílkoviny (g/100 ml)	Sůl (g/100 ml)	Vláknina (g/100 ml)
	kcal/100 ml	kJ/100 ml							
Podchlumní Dobrá Voda ¹³	16	67	0,1	0,01	2,21	0,2	1,5	0,64	0,0
dmBio ¹⁴	12	50	0,5	0,10	1,50	1,0	1,0	0,60	0,5
Křimice Lobkowitz ¹⁵	16	67	0,1	0,01	2,20	0,2	1,5	0,64	0,0
Tuřanská ¹⁶	11	45	0,1	0,10	1,60	1,0	0,3	2,00	0,0
Beutelsbacher ¹⁷	13	54	0,0	0,00	1,50	1,0	1,0	0,90	0,0
Voelkel ¹⁸	6	26	0,5	0,10	0,50	0,5	0,6	0,60	0,0
Dennree ¹⁹	15	64	0,2	0,10	1,00	1,0	0,8	0,90	0,0
Alnatura ²⁰	12	50	0,1	0,10	1,50	1,0	1,0	0,80	0,1
Edeka ²¹	14	60	0,2	0,09	1,50	1,0	0,8	0,88	0,0
Biopont ²²	12	50	0,2	0,00	1,50	1,0	1,0	1,50	0,0
Dr. Steinberger ²³	10	41	0,5	0,10	1,50	1,5	0,7	0,75	0,5
Grünfink ²⁴	15	64	0,2	0,10	1,50	1,0	0,8	0,88	0,0

¹³ Dobrovodská šťáva z kysaného zelí. <https://www.srdcekraje.cz/podrobnosti-produktu/zelna-stava-stava-z-kysaneho-zeli>

¹⁴ dmBio Šťáva z kysaného zelí. <https://www.dm.cz/dmbio-stava-z-kysaneho-zeli-p4058172218026.html>

¹⁵ Křimice Zelná šťáva z kysaného zelí. <https://www.zeli-n.cz/Zelna-stava-11-d6.htm#detail-anchor-description>

¹⁶ Tuřanská zelná šťáva. <https://zeli.agro-turany.cz/>

¹⁷ Beutelsbacher Zelná šťáva mléčně kvašená. <https://bionebio.cz/e-shop/napoje/dzusy-a-limonady/bio-zelna-stava-mlacne-kvasena-beutelsbacher-07-1-detail>

¹⁸ Voelkel Šťáva zelná. <https://www.countrylife.cz/stava-zelna-700-ml-bio-voelkel>

¹⁹ Dennree Šťáva z kysaného zelí. <https://www.countrylife.cz/stava-z-fermentovaneho-kysaneho-zeli-500-ml-bio-dennree>

²⁰ Alnatura Šťáva z kysaného zelí. <https://www.vegan-vegetarian.cz/produkt/alnatura-bio-stava-z-kysaneho-zeli-500-ml/>

²¹ Edeka Šťáva z kysaného zelí. <https://www.nemeckyeshop.cz/dzusy-a-stavy/edeka-bio-stava-z-kysaneho-zeli-0-5-1/>

²² Biopont Šťáva z kysaného zelí. <https://herbahouse.cz/d/biopon-bio-stava-z-kysaneho-zeli-750ml/796/>

²³ Dr. Steinberger Šťáva z kysaného zelí. <https://herbahouse.cz/d/dr-steinberger-bio-stava-z-kysaneho-zeli-750ml/822/m/161>

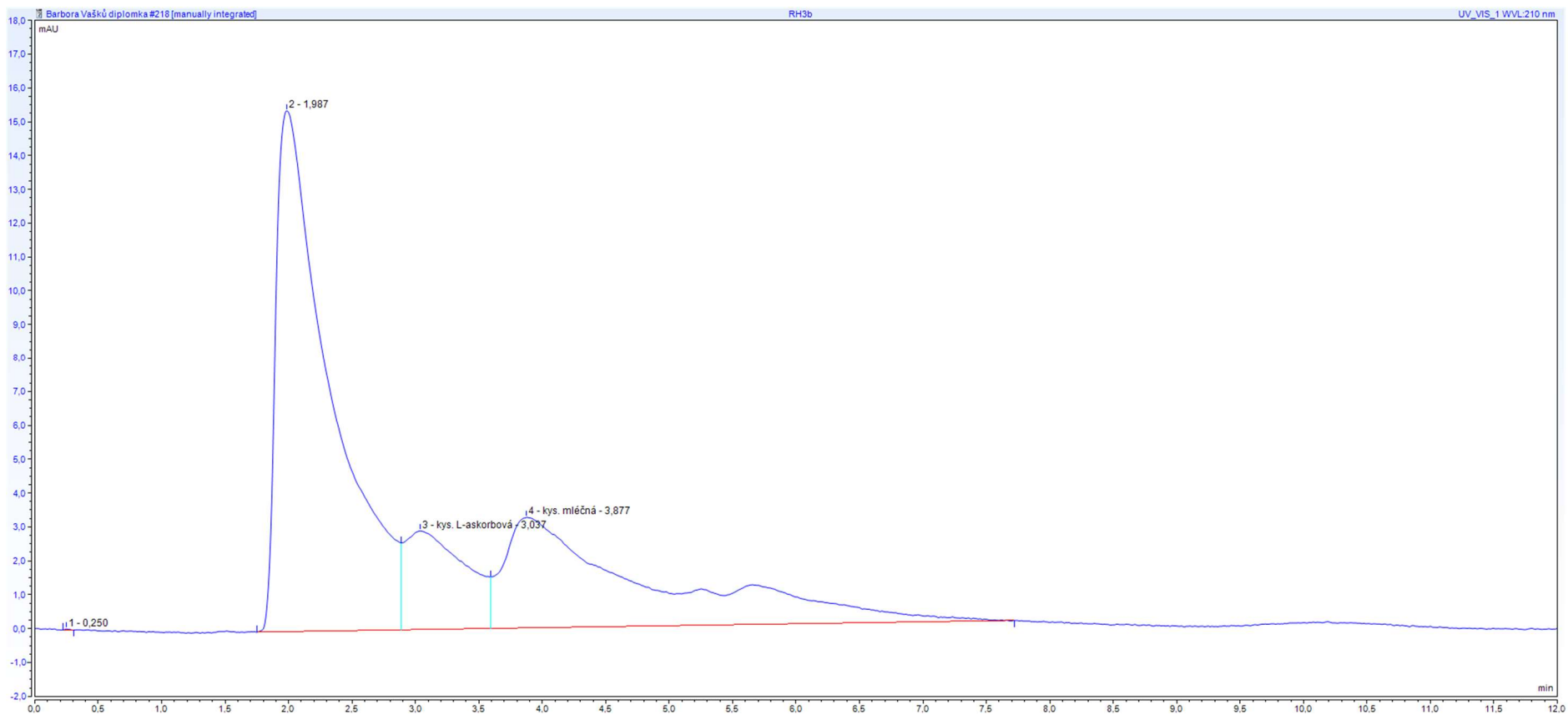
²⁴ Grünfink Šťáva z kysaného zelí. <https://www.gurmand.cz/grunfink--stava-z-kysaneho-bileho-zeli-11/>

Otická ²⁵	11	46	0,1	0,04	1,70	1,0	1,0	2,50	0,0
K-Bio ²⁶	13	55	0,5	0,10	1,90	1,0	0,6	0,60	0,5
Fond Sidus ²⁷	17	71	0,1	0,00	4,00	0,0	0,1	1,00	0,0

²⁵ Šťáva z Otického kysaného zelí. <https://www.ferpotravina.cz/ovocne-stavy/stava-z-otickeho-kysaneho-zeli-zp-otice-a-s>

²⁶ K-Bio Šťáva z kysaného zelí (Kaufland).

²⁷ Fond Sidus Šťáva z kysaného zelí. <https://www.rohlik.cz/1332741-kvas-zelny-stava-z-kvaseneho-zeli?cartUpdateSource=%2525253AFront%2525253ASearch%2525253Adefault-product-basketForm&defaultProductTab=2>



Příloha 7 HPLC chromatogram pro vzorek RH3b, UV-Vis detekce