

# Nápoje fermentované symbiotickými kulturami

Bc. Veronika Richter

---

Diplomová práce  
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Veronika Richter**  
Osobní číslo: **T20059**  
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**  
Forma studia: **Kombinovaná**  
Téma práce: **Nápoje fermentované symbiotickými kulturami**

## Zásady pro vypracování

### I. Teoretická část

1. Vypracujte literární rešerši týkající se následujících bodů.
2. SCOBY a vodní kefirová zrna, jejich mikrobiologický profil a metabolismus mikroorganismů.
3. Fyziologické působení symbiotických kultur na lidský organizmus.
4. Trendy v aplikacích SCOBY a vodních kefirových zrn při výrobě nápojů a ostatních výrobků.

### II. Praktická část

1. Vyroberte modelové vzorky kombuchy a vodního kefiru, které budou kopírovat moderní trendy této doby.
2. Provedte vybrané analýzy.  
Výsledky vyhodnotte a zformulujte závěry.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] AYED, Lamia, Salwa BEN ABID a Moktar HAMDİ, 2017. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology* [online]. 67(1), 111-121 [cit. 2021-5-20]. ISSN 1590-4261. Dostupné z: doi:10.1007/s13213-016-1242-2
- [2] DWILOKA, Bambang, Heni RIZQIATI a Bhakti Etza SETIANI, 2020. Physicochemical and sensory characteristics of green coconut (*Cocos nucifera* L.) water kefir. *International Journal of Food Studies* [online]. 9(2), 346-359 [cit. 2021-5-20]. ISSN 21821054. Dostupné z: doi:10.7455/ijfs/9.2.2020.a7
- [3] RANDAZZO, Walter et al., 2016. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology* [online]. 54, 40-51 [cit. 2021-5-20]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2015.10.018
- [4] YIKMIŞ, Seydi a Sergen TUĞM, 2019. Evaluation of Microbiological, Physicochemical and Sensorial Properties of Purple Basil Kombucha Beverage. *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology* [online]. 7(9), 1321-1327 [cit. 2021-5-20]. ISSN 2148-127X. Dostupné z: doi:10.24925/turjaf.v7i9.1321-1327.2550

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Richardos Nikolaos Salek, Ph.D.**  
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**Ing. Robert Gál, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 18. února 2022

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

### **Prohlašuji,**

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce byla zaměřena na zkoumání netradičních fermentovaných nápojů, jejichž vzorky byly vyrobeny pomocí SCOBY násady a násady vodních keřirových zrn (TIBI). Výzkum byl zaměřen na výrobu netradičních fermentovaných nápojů, kdy byly symbiotické kultury kultivovány v prostředí s 100% podílem ovocné složky z červených grapefruitů, grepová šťáva z koncentrátu bez a s přidavkem sacharosy. Vzorky byly hodnoceny v rámci fyzikálně chemické analýzy, reologického měření, sensorické analýzy a byly zkoumány na přítomnost biogenních aminů (BA), které by ve vyšších koncentracích mohly mít neblahý vliv na zdraví konzumenta.

V rámci fyzikální a chemické analýzy byly pozorovány rozdíly mezi vyrobenými prototypy nápojů vodního keřiru a kombuchy. Jednalo se hlavně o přirozený pokles refraktometrické sušiny a nárůst ethanolu. U vodního keřiru byly změny oproti nápoji kombucha daleko výraznější. Například z hlediska obsahu konečného obsahu ethanolu ve vzorku po 5 dnech fermentace byla horní hranice u vodního keřiru téměř 5% v/v, naopak u kombuchy byly maximální hodnoty do 0,7 % v/v. I změny refraktometrické sušiny byly velmi rozdílné. Například u vzorků vodního keřiru s přidavkem sacharosy klesla hodnota z počátečních hodnot 20 % w/w na hodnotu 13,5 % w/w po 5 dnech fermentace. U nápoje kombucha byly počáteční hodnoty refraktometrické sušiny s přidavkem sacharosy také 20 % w/w, koncová hodnota při fermentaci byla stanovena na 16,9 % w/w. Z reologického hlediska byly všechny vzorky určeny jako pseudoplastické kapaliny. Z hlediska rozboru vzorků na přítomnost BA se vyskytovaly BA typické pro fermentované nápoje a v toxikologicky nevýznamném množství. V rámci sensorické analýzy byl proveden preferenční test, z něhož bylo patrné nejlepší hodnocení vzorku vodního keřiru s přidavkem sacharosy. Naopak nejhůře hodnoceným vzorkem v rámci sensorické analýzy se stal vzorek kombuchy s přidavkem sacharosy.

Klíčová slova: fermentované nápoje, kombucha, vodní keřir, Tibi kultura, SCOBY

## **ABSTRACT**

This diploma thesis was focused on the investigation of non-traditional fermented beverages, whose samples were produced using the SCOBY handle and the water kefir grain handle (TIBI). The research was focused on the production of non-traditional fermented beverages, where symbiotic cultures were grown in an environment with 100% fruit component from red grapefruits, grapefruit juice concentrate without and with the addition of sucrose. The samples were evaluated in the framework of physicochemical analysis, rheological measurement, sensory analysis and were examined for the presence of biogenic amines, which in higher concentrations could have an adverse effect on the health of the consumer.

Within the physical and chemical analysis, differences were observed between the produced prototypes of water kefir drinks and kombucha. It was mainly a natural decrease in refractometric dry matter and an increase in ethanol. For water kefir, the changes were much more pronounced than for kombucha. For example, in terms of the final ethanol content of the sample after 5 days of fermentation, the upper limit for water kefir was almost 5% v/v, while for kombucha the maximum values were up to 0.7% v/v. The changes in refractometric dry matter were very different. For example, for water kefir samples with added sucrose, the value decreased from initial values of 20% w/w to 13.5% w/w after 5 days of fermentation. For the kombucha drink, the initial values of the refractometric dry matter with the addition of sucrose were also 20% w/w, the final value for fermentation was set at 16.9% w/w. From a rheological point of view, all samples were determined as pseudoplastic fluids. In terms of analysis of samples for the presence of biogenic amines, BAs typical of fermented beverages and in toxicologically insignificant amounts occurred. As part of the sensory analysis, a preferential test was performed, which showed the best evaluation of a sample of water kefir with the addition of sucrose. On the contrary, the worst-rated sample in the sensory analysis was the sample of kombucha with the addition of sucrose.

Keywords: Keywords: fermented beverages, kombucha, water kefir, Tibi culture, SCOBY

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu své diplomové práce, panu docentovi Richardosu Nikolaosu Salekovi, Ph. D. za odbornou pomoc, trpělivost, rychlé reakce při řešení akutních záležitostí a za vytvoření harmonického prostředí při vykonávání praktické části diplomové práce. Rovněž chci velmi poděkovat paní Ing. Evě Lorencové, Ph.D. za notnou dávku trpělivosti, cenné doporučení a rady.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala svému manželovi a dětem, za obrovskou dávku podpory a trpělivosti a za vytvoření vhodných podmínek. Bez vás bych to nezvládla.

„To, co děláme, je méně než kapka v moři. Ale bez této kapky by tady něco chybělo.“

Matka Tereza

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 SCOBY A ZRNA VODNÍHO KEFÍRU</b> .....	<b>12</b>
1.1    MIKROBIOLOGICKÝ PROFIL SCOBY .....	12
1.2    MIKROBIOLOGICKÝ PROFIL ZRN VODNÍHO KEFÍRU .....	13
<b>2 FYZIOLOGICKÉ PŮSOBENÍ SYMBIOTICKÝCH     MIKROORGANISMŮ NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA</b> .....	<b>15</b>
2.1    ÚČINKY PŮSOBENÍ PROBIOTIK .....	15
2.2    ZRNA VODNÍHO A MLÉČNÉHO KEFÍRU.....	15
2.3    SCOBY KULTURA.....	18
<b>3 TRENDY V APLIKACÍCH VODNÍHO KEFÍROVÉHO ZRNA</b> .....	<b>20</b>
3.1    OVOCNÉ ŠŤÁVY FERMENTOVANÉ POMOCÍ MIKROBIÁLNÍ NÁSADY VODNÍHO KEFÍRU .....	20
3.2    ZELENINOVÉ ŠŤÁVY FERMENTOVANÉ POMOCÍ MIKROBIÁLNÍ NÁSADY ZRN VODNÍHO KEFÍRU .....	22
3.3    POUŽITÍ ZRN VODNÍHO KEFÍRU NA VÝROBU NETRADIČNÍCH POTRAVIN A PRO JINÉ, NEŽ POTRAVINÁŘSKÉ ÚČELY .....	23
<b>4 TRENDY V APLIKACÍCH SCOBY</b> .....	<b>25</b>
4.1    FERMENTACE SCOBY V BYLINNÝCH ČAJÍCH.....	25
4.2    FERMENTACE SCOBY V OVOCNÝCH ŠŤÁVÁCH.....	26
4.3    FERMENTACE SCOBY V NETRADIČNÍCH MÉDIÍCH A JINÉ POUŽITÍ.....	28
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>32</b>
6.1    MATERIÁL A METODY .....	34
6.1.1    Suroviny pro výrobu nápoje z vodního kefíru a z kombuchy .....	34
6.1.2    Přístroje a pomůcky.....	34
6.2    VÝROBA MODELOVÝCH VZORKŮ VODNÍHO KEFÍRU A KOMBUCHY .....	35
6.2.1    Příprava vodního kefíru.....	35
6.2.2    Příprava kombuchy .....	36
6.3    FYZIKÁLNĚ CHEMICKÁ ANALÝZA .....	36
6.4    REOLOGICKÁ ANALÝZA.....	37
6.5    BIOGENNÍ AMINY .....	39
<b>7 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>41</b>
7.1    VYHODNOCENÍ FYZIKÁLNĚ CHEMICKÉ ANALÝZY .....	41
7.1.1    Výsledky stanovení pH .....	41
7.1.2    Výsledky stanovení RS .....	43
7.1.3    Výsledky stanovení měrné elektrické vodivosti .....	45



7.1.4	Výsledky stanovení hustoty a ethanolu .....	46
7.2	VÝSLEDKY REOLOGICKÉ ANALÝZY .....	51
7.2.1	Výsledky reologické analýzy u vzorků vodního kefíru .....	51
7.2.2	Výsledky reologické analýzy u vzorků kombuchy .....	54
7.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ .....	56
7.3.1	Výsledky stanovení BA u vzorků vodního kefíru .....	57
7.3.2	Stanovení biogenních aminů u vzorků kombuchy .....	60
7.4	VÝSLEDKY SENZORICKÉ ANALÝZY .....	61
7.4.1	Senzorické hodnocení u vzorku TB .....	63
7.4.2	Vyhodnocení sensorické analýzy u vzorku TBS .....	64
7.4.3	Vyhodnocení sensorické analýzy u vzorku KMB .....	65
7.4.4	Vyhodnocení sensorické analýzy u vzorku KMBS .....	66
7.4.5	Pořadový preferenční test.....	67
<b>ZÁVĚR</b>	.....	<b>69</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b>	.....	<b>71</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b>	.....	<b>80</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b>	.....	<b>81</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b>	.....	<b>82</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH</b>	.....	<b>83</b>

## ÚVOD

V poslední době se fermentované nápoje symbiotickými kulturami těší velké oblibě. Mohou za to nejen příznivé účinky na organismus konzumenta, ale také možné různorodé chuťové variace těchto fermentovaných nápojů (Lynch et al., 2021).

Tento nový trend se neuchytil jen díky možné široké variabilitě různých obvyklých i méně obvyklých chutí, ale také pro možnost konzumovat fermentované nápoje, u kterých není zdrojem výživy mléčná bílkovina nebo jiná složka živočišného původu, a přesto mají velmi podobný pozitivní vliv na lidský organismus (Gulitz, 2011).

Dříve se spíše fermentované nápoje připravovaly ve standartních nálevech, tj. kombucha v černém nebo v zeleném čaji, do kterého byla přidána sacharosa a vodní kefir v cukerném roztoku, který byl tvořen pouze vodou a sacharosou (Jayabalan et al., 2014).

Současné trendy prozkoumávají možnosti fermentace těchto symbiotickými kulturami i v jiných médiích než těch s dlouholetou tradicí (Gulitz, 2011).

Lidská bakteriální střevní flora je jedním z nejhustěji osídlených a nejdůkladněji prozkoumaných bakteriálních ekosystémů v přírodě. Tato mikroflóra obsahuje více bakteriálních buněk než všechna ostatní mikrobiální společenství našeho těla dohromady. Střevní mikrobiální společenství (mikrobiom) a jeho kolektivní genom nás obdarují fyziologickými atributy, které jsme si nemuseli vyvinout sami, včetně schopnosti odbourávat jinak nestravitelné polysacharidy. Symbiotické kultury osídlující organismus, jsou kultury, které jsou oboustranně prospěšné, žijí v harmonii a navzájem se nikterak neohrožují a ani si neškodí. Mezi symbiotické bakterie patří například právě výše zmíněný střevní mikrobiom, jehož složení a funkčnost má vliv na lidské zdraví (Xu et al., 2007).

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 SCOBY A ZRNA VODNÍHO KEFÍRU

Kultura pro výrobu nápoje kombucha (SCOBY) zrna vodního kefiru jsou symbiotické kultury mikroorganismů. Díky působení jejich metabolismu dochází k přeměnám konkrétních použitých substrátů. V případě kultury pro výrobu nápoje kombucha vodního kefiru (Tibi krystalů) se jedná o přeměnu sacharosu na oxid uhličitý a ethanol (Fels et al., 2018).

Symbiotic Culture Of Bacterias and Yeasts, dále jen SCOBY, je symbiotická kultura bakterií a kvasinek připomínající právě houbu. Nejčastěji se s tímto označením setkáváme u kultury používané pro výrobu kombuchy (Tran et al., 2020). Prakticky lze ale toto označení vztáhnout i na kulturu pro výrobu vodního kefiru Tibi. V tomto textu bude však SCOBY používáno jen pro označení „čajové houby“ pro výrobu kombuchy.

„Čajová houba“ je celulózový plát, složený z bakteriálních a kvasinkových symbiotických kultur, jehož hlavní komponentou pro fermentaci jsou bakterie mléčného kvašení, octové bakterie a osmofilní kvasinky (Macedo, 2020).

Vodní keřirová zrna, u nás známější pod názvem Tibi krystaly, jsou skupina mikroorganismů, které mají gelový nepravidelný zrníčkový tvar nebo jsou přítomny ve formě tzv. písku (Tu et al., 2019). Složení mikroorganismů je podobné jako u kombuchy a podrobně bude zmíněno v další podkapitole (1.2).

### 1.1 Mikrobiologický profil SCOBY

Čajová houba neboli SCOBY je obecný název pro symbiotický růst bakterií kyseliny octové a osmofilních druhů kvasinek v plátu podobném celulóze. SCOBY je tedy konsorciem kvasinek a bakterií, formální botanický název *Medusomyces gisevii* jí dal Lindau (Jayabalan et al., 2014).

Čajovou houbu nelze zařadit mezi houby. Tento název je nesprávně uveden kvůli schopnosti bakterií syntetizovat plovoucí celulosovou síť, která se na neporušeném, nevytřepaném médiu jeví jako povrchová plíseň. Podobně jako třeba u kefiru z mléka, nelze ani u kombuchy uvést přesné mikrobiální složení, protože se liší. Závisí na zdroji inokula pro fermentaci čaje (Hesseltine, 2018).

Mezi nejhojněji zastoupené prokaryotické bakterie v této kultuře patří k bakteriálním rodům *Acetobacter* (dále *A.*) a *Gluconobacter* (dále *G.*). Základní bakterií je *Acetobacter xylinum* vytvářející celulosovou plovoucí síť na povrchu fermentační kapaliny. Tato síť je

sekundárním metabolitem kombuchové fermentace, ale také jedním z jedinečných rysů kultury (Jayabalan et al., 2014).

Mikroflóra usazená v celulóze vrstvě je smíšenou kulturou *A. xylinum* a *Zygosaccharomyces* sp. Převládající bakterie octového kvašení, které se vyskytují v čajové houbě, jsou již výše uvedené *A. xylinum*, dále *A. pasteurianus*, *A. aceti* a *G. oxydans* (Liu et al., 1996). Klíčovým funkčním bakteriálním druhem izolovaným z konzervované kombuchy byl *Gluconacetobacter* sp. A4 (*G. sp. A4*), který má silnou schopnost produkovat D-kyselinu sacharidovou-1,4-lakton (DSL).

1,4-lakton kyseliny d-sacharidové (DSL) je známý pro své detoxikační a antioxidační vlastnosti, navíc může zlepšit diabetes mellitus a oxidační stres (BHATTACHARYA et al., 2013).

Další detekované kmeny byly rodu *Acetobacter*, konkrétně *A. intermedius* sp. a *A. nitrogenifigens* sp. nov. byly taktéž izolovány z kombuchového nápoje. U *Gluconobacter* nový druh *G. kombuchae* sp. nov. vázající dusík a produkující celulosu (Jayabalan et al., 2014).

Dále se ukázalo, že dominantní bakterie v pěti vzorcích kombuchy (dva z Kanady a po jednom z Irska, Spojených států a Spojeného království) patří k druhům *Gluconacetobacter* (více než 85 % ve většině vzorků) a *Lactobacillus* (až 30 %) *Acetobacter* byl stanoven ve velmi malém počtu (méně než 2 %), (Arikan, 2020).

Kromě bakterií octového obsažených ve SCOBY se zde vyskytuje mnoho druhů kvasinek. Bylo zaznamenáno široké spektrum včetně druhů *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Torulospora*, *Koleckera*, *Pichia*, *Mycotorula* a *Mycoderma*. Kvasinky druhu *Saccharomyces* byly identifikovány jako *Saccharomyces* sp. a jako *Saccharomyces cerevisiae* (Liu, 1996; Jayabalan et al., 2014; Hesseltine, 2018; Arikan, 2020).

## 1.2 Mikrobiologický profil zrn vodního kefiru

Mikrobiologické zastoupení u zrn vodního kefiru (Tibi krystaly) se může lišit, a to zvláště u nekomerčních výrobků. U průmyslově vyráběných nápojů určených k prodeji by mělo být zastoupení kultur garantované a hlídáno. U doma fermentovaných nápojů toto logicky nelze zajistit.

Vodní kefir je nápoj tvořený z nemléčných zrn, která jsou připravována z roztoku sacharosy ovocnou složkou nebo i bez ní. Všeobecně jsou hlavními zástupci mezi symbiotickými mikroorganismy kvasinky, zejména *Kluyveromyces*, *Candida* a *Saccharomyces*, dále pak bakterie mléčného kvašení (dále jen BMK), včetně rodů *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* a *Streptococcus* (Gulitz, 2011).

Všechny zmíněné mikroorganismy a jejich složky jsou uloženy v pružném materiálu, v rozvětvené glukogalaktanové matici, která se nazývá kefiran (Rotrigues et al., 2005).

Dle studie „Vývoj nových nemléčných nápojů ze středomořského ovoce, šťávy fermentované mikroorganismy vodního kefiru“ (Walter et al., 2016) byl stanoven mikrobiologický obraz vodního kefiru z komerčně dostupných kultur vodního kefiru následující. Jak bylo deklarováno výrobcem, v převážném zastoupení byly identifikovány kmeny *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus cefiry*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Saccharomyces cerevisiae* (Walter et al., 2016).

## 2 FYZIOLOGICKÉ PŮSOBENÍ SYMBIOTICKÝCH MIKROORGANISMŮ NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA

Mezi symbiotické mikroorganismy, které mohou mít pozitivní vliv na zdraví konzumenta, a mohou být nalezeny v zrnech vodního kefiru a ve SCOBY, patří především bakterie mléčného kvašení a probiotické bakterie (Koh, 2018).

### 2.1 Účinky působení probiotik

Hlavní složkou, která má vliv na zdraví konzumenta, nejsou probiotika jako taková, ale jejich metabolity. Mezi tyto produkty metabolismu patří např. peroxid vodíku, organické kyseliny, bakteriociny. Tyto produkty jsou inhibitory pro nežádoucí grampozitivní i gramnegativní bakterie. Jejich další funkcí v organismu je také soutěžení s patogenními bakteriemi o adhezní místa. Pokud se totiž patogeny neuchytí, nemohou dále růst a svým metabolismem vyvolávat v organismu nežádoucí účinky. Pokud jsou v zažívacím traktu přítomny probiotické bakterie, dochází díky nim ke stimulaci nespecifické i specifické imunity a k nemožnosti uchycení toxických produktů na stěnu zažívacího traktu (Nagpal et al., 2014). Mezi další benefity patří tvorba vitamínů (Tománková et al., 2006), snižují výskyt alergických reakcí organismu, dochází k inhibici hnilobných a jiných nežádoucích produktů v organismu, díky čemuž se mezi jejich vlastnosti řadí také anti mutagenní a anti karcinogenní účinek, jelikož hnilobné produkty jsou inhibovány a není jim umožněno uvolňování případných karcinogenních látek (Shavit, 2008).

Při řadě studií bylo prokázáno, že některé kmeny probiotických mikroorganismů mohou pozitivně ovlivňovat imunitní systém a tím konzumenta chránit před alergiemi, rakovinou, infekcí a záněty (Gill et al., 2009).

Probiotika, svým umístěním v tlustém střevě konzumenta, mají mimo jiné i velký vliv na zdraví tohoto orgánu a celého zažívacího traktu. Jedná se např. o pozitivní vliv na tvorbu sekrece hlenu, působí proti nadýmání, mají vliv na vstřebávání živin, mohou pomoci při léčbě průjmů nebo zácpy, celkově upravují a podporují trávení a tvorbu stolice (Frič, 2010).

### 2.2 Zrna vodního a mléčného kefiru

Pevná gelovitá struktura vodního kefiru je symbiotickou směsí bakterií a kvasinek uložených v primárně polysacharidové matici, které má tvar nepravidelných hrudek nebo písku. Záleží

na stáří dané matrice. Zrna jsou většinou průhledná (viz Obr. 1) nebo lehce zbarvená dle použitého média pro jejich růst a fermentaci (Lynch et al., 2021).

Zrno mléčného kefiru (Obr. 1), který má původ pravděpodobně v kavkazských horách, je symbiotická kultura mikroorganismů skládající se z polysacharidů, které zahrnují bakterie mléčného kvašení a kvasinky. Zrna mají také nepravidelnou velikost i tvar a mají bílou nebo žlutou barvu. Produkují fermentovaný nápoj, který má protizánětlivé, antineoplastické, antioxidantní, antibakteriální, antifungální, imunomodulační a hypocholesterolemické vlastnosti (Rocha- Gomes et al., 2018).

V poslední době se v lidské populaci častěji setkáváme s intolerancí laktózy či jiné složky mléčných výrobků. Proto se výrobky podobné mléčnému kefiru těší čím dál větší popularitě. Jejich konzumace přináší totiž téměř stejné zdravotní benefity, jako má spotřeba výrobků fermentovaných tradičními kulturami (Rocha- Gomes et al., 2018; Shavit, 2008).



**Obrázek 1.** Porovnání zrn mléčného (vlevo) a vodního kefiru (Guzel-Seydim, 2021).

Rozdílů mezi zrny vodního a mléčného kefiru je mnoho. Momentálně však bohužel není v dostupné literatuře přesný výzkum, který by se zajímal pouze touto problematikou. Závěry vědecké obce, výzkumy a názory na podobné a rozdílné složení a benefity, se značně rozcházejí (Guzel-seydim, 2021).

Vodní i mléčná kefirová zrna jsou tradičně tvořena z poloměkkých částic, které obsahují probiotika, bakterie mléčného kvašení a kvasinky (Guzel-seydim, 2021).



I přes určité podobnosti obou zrn jsou známy rozdíly ve struktuře, které zajišťují výsledný rozdíl vzniklého fermentovaného nápoje. Dva stejné nápoje vyrobené těmito rozdílnými kulturami mají obecně odlišné fyzikální a chemické vlastnosti, tak i mikrobiologické složení. Obě kultury obsahují široké spektrum probiotických kultur, které mají zásadní vliv na lidské zdraví (Shavit, 2008).

U fermentovaného nápoje z vodních keřirových zrn je obecně uváděn selektivní tlak, jako je stimulace metabolismu *Saccharomyces* druhů, což vede k vyššímu obsahu alkoholu ve vodních keřirových nápojích na rozdíl od mléčných keřirů. (Tzavaras, 2022).

Přestože se vodní keřirové nápoje vyrábí v domácnostech po celém světě, průmyslový proces dosud nebyl realizován. K výrobě nových probiotických produktů na bázi keřiru je ve skutečnosti nutný další výzkum mikrobiologických, technologických a funkčních vlastností. Nicméně byly předloženy návrhy na minimální počet kmenů, který je vhodný pro účinnou fermentaci, přičemž mikrobiální bezpečnost vodního keřiru je zajištěna díky jeho nízkému pH (Tzavaras, 2022). Vodní keřir může být významným probiotickým a prebiotickým zdrojem pro vegany a lidi, kteří jsou alergičtí na mléčné výrobky (Guzel-Seydim, 2021).

Naopak u fermentovaného nápoje z mléčných zrn je uváděn vyšší nutriční obsah ve srovnání se zrny vodního keřiru (Gökırmaklı, 2022). Mléčný keřir obsahuje daleko více bílkovin a také probiotik a prebiotik (Guzel-Seydim, 2021).

Zatímco mléčný keřir je bohatým zdrojem mléčných bílkovin, probiotik a prebiotik, vodní keřir může být významným probiotickým a prebiotickým „pomocníkem“ pro osoby buď trpící na intoleranci mléčných bílkovin a jiných mléčných složek, nebo také pro osoby, které vyznávají některé z alternativních směrů stravování (veganství, náboženské nebo osobní důvody) (Guzel-seydim, 2021; Shavit, 2008).

V roce 2018 (Rocha Gomez et al. 2018) byl proveden výzkum na porovnání působení zrn vodního i mléčného keřiru na potkanech. Cílem bylo porovnat působení keřirů přes nutriční, fyziologické a biochemické parametry u těchto hlodavců. Byla použita zrna mléčného keřiru (celého i odstředěného) a vodního keřiru (k němuž byl do vodního roztoku přidán hnědý cukr). Analýza chemického složení byla provedena na substrátech a fermentovaných nápojích. U krys byl hodnocen přírůstek hmotnosti těla (Rocha Gomez et al., 2018).

Fermentace zvýšila index obsahu kyselin v důsledku degradace laktózy a hnědého cukru. Zvířata, jelikož konzumovala celkově více keřiru, omezila tím přirozeně příjem potravy a i vody. Keřir nezměnil pouze tělesnou a orgánovou hmotnost, ale zároveň zlepšil lipidový

profil. Vodní kefir byl účinnější při zlepšování lipidového profilu nežli mléčný kefir. Mléčná kefirová zrna produkovala nižší hodnoty pH a vyšší kyselost, naopak u použití zrn vodního kefiru se kyselost snížila a hodnoty pH se zvýšily, a to důsledkem produkce organických kyselin (kyselina mléčná, octová, propionová a máselná), fenolů (kafeinová, benzoová, galová a chlorogenová), ethanolu a CO<sub>2</sub> (Rocha Gomez et al., 2018).

### 2.3 SCOBY kultura

Kombucha je fermentovaný nápoj, který byl poprvé konzumován v Číně před více než 2000 lety a od té doby se stal populární v mnoha zemích. Kombucha je nápoj tradičně vyráběný fermentací čaje pomocí SCOBY (Obr. 2). SCOBY se skládá ze symbiotické interakce mezi bakteriemi (*Acetobacter xylinum*) a kvasinkami (*Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces a Pichia*) (Primiani et al., 2018). Samotné SCOBY by se dalo popsat pomocí vnějších znaků jako celulosový plát, který připomíná houbu. Může mít různou tloušťku podle stáří dané kultury a také různý průměr „kruhu“ a to podle lahve, ve které je uchovávána k fermentaci. Vzhledem k jeho proklamovaným pozitivním účinkům na lidské zdraví byla provedena řada výzkumů biochemických vlastností, mikrobiologie, toxicity, produkce celulózy a dynamiky fermentace kombuchového nápoje (Arikan et al., 2020; Ugale, 2021; Jayabalan, 2008). Nápoj Kombucha obsahuje různé sloučeniny, které produkuje startovací kultura SCOBY. Sloučeniny obsahují organické kyseliny, zejména kyselinu octovou, glukonovou a glukuronovou, ačkoli lze nalézt také kyselinu citrónovou, L-mléčnou, jablečnou, vinnou, malonovou, šťavelovou, jantarovou a pyrohroznovou. Kombucha má blahodárný účinek díky přítomnosti čajových polyfenolů, kyseliny glukonové, kyseliny glukuronové, kyseliny mléčné, kyseliny máselné, bakterie octového kvašení (mírně antibakteriální) vitamínů (skupiny B), aminokyselin, antibiotik a mnoha jiných mikroživin produkovaných během fermentace pomocí SCOBY (Ugale, 2021).

Co se týče konkrétních účinků nápoje kombucha na lidské zdraví, byla zjištěna tato pozitiva. Při pravidelné konzumaci kombuchy se v těle zabraňuje degradaci polynenasycených mastných kyselin, a to díky obsahu kyseliny glukuronové, která zvyšuje biologickou dispozici polyfenolů, což má za následek neutralizaci volných radikálů a navíc tím podporuje i peroxidaci lipidů (Jayabalan, 2008).

Za další benefity mohou extrakty ze zeleného a černého čaje, které se v nápoji převážně vyskytují, ty mohou snížit hladinu krevního cukru a tím zabránit vstřebávání cukru jiným způsobem (Ugale, 2021).

Pravidelná konzumace vede ke snížení hladiny cholesterolu v krvi a celkově krevního tlaku, povzbuzuje funkci imunitního systému a pomáhá ke správné funkci trávicího traktu (Leal, Suarez a Jayabalan, 2018).

Symbiotická interakce během fermentace čaje přeměňuje cukr na organické kyseliny s krátkým řetězcem, vitaminy a alkoholy. Kombucha je účinná při léčbě zácpy, zvyšuje mikroflóru uvnitř střev, posiluje imunitní systém, snižuje krevní tlak a cholesterol, eliminuje rakovinné buňky, má protilátkový účinek, antioxidační aktivitu a také antibakteriální účinek, ve velkém množství v ní nalezneme vitamíny ze skupiny B. Symbiotická interakce v kombuchách rozkládá substrát v aerobním prostředí, a to po dobu sedmi až deseti dnů, za vzniku svěžího, kyselého syceného nápoje (Laureys et al., 2020).



**Obrázek 2.** Násada SCOBY (Ratfing, 2022).

### 3 TRENDY V APLIKACÍCH VODNÍHO KEFÍROVÉHO ZRNA

Vodní keřirové zrno je u nás spíše záležitostí posledních let, ale má svoji dlouhou historii. Původ vodního keřiru však zůstává nejasný. Existovalo několik popisů podobných zrn nazývaných „rostliny zázvorového piva“, které angličtí vojáci přivezli z krymské války v roce 1855 nebo také „Tibi grains“, o kterých je známo, že pocházejí z mexického kaktusu (*Opuntia*), (Gulitz et al., 2011).

Tradičně se vodní keřirová zrna fermentují ve vodě s přídavkem sacharosy a sušeného ovoce. V poslední době tím, jak stoupá oblíba těchto fermentovaných nemléčných nápojů, se stále více experimentuje s fermentací i v jiných médiích, než je roztok vody se sacharosu.

#### 3.1 Ovocné šťávy fermentované pomocí mikrobiální násady vodního keřiru

Byly zkoumány různé ovocné šťávy pro výrobu nemléčných fermentovaných nápojů. Následně byly analyzovány senzorické, mikrobiologické a chemické vlastnosti daných nápojů. V rámci této studie byla keřirová zrna inokulována do upravených šťáv z těchto druhů ovoce: (Walter et al., 2015)

- jablka (*Malus domestica*, odrůda *Gala*),
- kdoule (*Cydonia oblonga* Mill., odrůda *cv Del Portogallo*),
- hroznové víno (*Vitis vinifera*),
- kiwi (*Actinidia chinensis*),
- granátové jablko (*Punica granatum*),
- opuncie (*Opuntia ficus-indica*).

Byla provedena pasterace vylisovaných šťáv (75 °C po dobu pěti minut), po ochlazení byly inokulovány vodním keřirem, jehož přídavek činil 4 % w/w. Výsledné fermenty vykazovaly hodnoty ethanolu v rozsahu 1,03 a 4,96 % v/v, (Walter et al., 2015). Nejmenší zastoupení ethanolu měla fermentovaná šťáva z kiwi, naopak nejvíce ethanolu obsahoval nápoj z kdoulí, jablek a hroznů (Walter et al., 2015).

Nejnižší množství kyseliny mléčné (0,02 g/l) bylo detekováno u fermentovaného nápoje z hroznů a jablek, nejvyšší množství (1,00 g/l) naopak u opuncie (Walter et al., 2015).

Studie Alves et al. (2021) se zabývala vývojem veganského fermentovaného nápoje na bázi vodního kefiru, který obsahoval kokosový extrakt a inulin. Použito bylo následující množství přidaných látek do fermentačního media: kokosový cukr (2,0; 6,0 a 10,0 % w/w); inulin (2,0, 2,5 a 3,0 % w/w) a xanthanová guma (0,0; 0,13 a 0,26 % w/w) (Alves et al., 2021).

Cílem bylo sledovat růst keřirových zrn, výtěžek fermentovaného nápoje a obsah kyseliny mléčné. Růst keřirových zrn byl vyšší, v případě vyšší koncentrace jak inulinu tak i xanthanové gumy, což ovlivnilo z 90 % rychlost růstu keřirových zrn. Fermentační proces byl uznán významným z hlediska nutričního a enzymatického obsahu (Alves et al., 2021).

Ve Studii Ozcelik et al. (2021) byly zkoumáním podrobeny tyto šťávy z třešně, hlohu, červené švestky, šípku a granátového jablka. Tyto šťávy byly fermentovány pomocí zrn vodního kefiru po dobu 48 hodin při 25 °C. Byly zkoumány fyzikálně-chemické, mikrobiologické a senzorické vlastnosti, dále pak obsah celkových fenolických sloučenin a antioxidační činidlo 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH) (Ozcelik et al., 2021). Hodnota pH všech nápojů se na konci fermentace pohybovala od 3,45 do 3,97. Nápoje ze šípků a granátového jablka měly nejvyšší celkovou aktivitu fenolických sloučenin a DPPH pohlcující radikály během doby skladování. Během doby skladování byly ve fermentech nejvíce zastoupeny *Lactobacillus* spp. a *Lactococcus* spp.

Nejlépe byly hodnoceny nápoje z granátového jablka a růžového šípku. Stanovený závěr byl takový, že ovocné šťávy lze použít při výrobě vodního kefiru a zvýšit tím variabilitu vyráběných nápojů (Ozcelik et al., 2021).

Ve studii Hamptom et al. (2021) byl zkoumán fermentační vliv Tibi na hruškové pyré a šťávu z hrušky a to z důvodu vyzkoušení další metody konzervování, jelikož při klasické konzervaci dochází ke ztrátám fenolických látek anebo je potřeba přidat vysoký obsah sacharosy (u marmelád a džemů). Naproti tomu fermentace prokazatelně zvyšuje obsah antioxidantů (Hamptom et al., 2021). Výsledky ukázaly, že antioxidační kapacita pyré vedla k menší ztrátě schopnosti zachycovat, zatímco fermentovaná šťáva měla za následek o 10 % vyšší antioxidační schopnost. Celkově bylo prokázáno, že hrušková šťáva a keřir jsou přijatelné matrice pro fermentaci vodního kefiru a fermentace pomocí vodních keřirových zrn byla navržena jako alternativní přístup ke konzervaci potravin (Hamptom et al., 2021).

V nedávném dalším výzkumu, který byl zaměřen na fermentaci pomocí zrn vodního kefiru, se pojednávalo o fermentaci ve šťávě z dračího ovoce (*Pytaiaia*), které bylo obohaceno jablečným pyré (Bueno, 2021). Výsledkem bylo vytvoření nového funkčního nápoje, u

kterého byl prokázán symbiotický vztah mezi bakteriemi a kvasinkami, dále pak, díky přidavku jablečného pyré, byla prokázána vyšší antioxidační aktivita. Při skladování daného nápoje probíhalo měření, které sledovalo skladovací proces. Výsledkem bylo zjištění, že skladovací proces snížil bioaktivitu fermentovaného nápoje (Bueno, 2021).

### 3.2 Zeleninové šťávy fermentované pomocí mikrobiální násady zrn vodního kefiru

Studie (Randazzo et al., 2015) se věnovala problematice fermentovaných zeleninových šťáv, které by mohly mít účinnější vliv na zdraví konzumenta než v surové základní formě. Pro fermentaci byla použita šťáva z následující zeleniny: (Randazzo et al., 2015)

- mrkve (*Daucus carota* L.),
- fenyklu (*Foeniculum vulgare* Mill.),
- melounu (*Cucumis melo* L.),
- cibule (*Allium cepa* L.),
- rajčat (*Solanum lycopersicum* L.),
- jahod (*Fragaria x ananassa* Duch.).

Po lisování byla provedena pasterace (75 °C po dobu pěti minut), po ochlazení byly inokulovány vodním kefirem, jehož přídavek činil 4 % (w/w) objemových. Výsledné fermenty vykazovaly hodnoty ethanolu v rozsahu 1,03 a 4,96 % (v/v) objemových (Randazzo et al., 2015).

Nejvyšší množství mikroorganismů bylo prokázáno u melounové šťávy. Nejkladněji hodnocená, co se týče sensorické analýzy, byla kvašená šťáva z mrkve (Randazzo et al., 2015).

Po fermentaci došlo k poklesu obsahu rozpustné pevné látky, a naopak se zvýšil počet těkavých organických sloučenin. Celková koncentrace alkoholů se u všech vzorků zvýšila, naopak se snížila koncentrace aldehydů (Randazzo et al., 2015).

V nedávném výzkumu byla pro fermentovaný nápoj použita i dýně (*cucurbita peto*), ze které bylo vytvořeno pyré, které bylo následně doslazeno hnědým cukrem a zaočkováno zrn

vodního kefiru. Dýně jako fermentační médium byla zvolena pro své nutriční přínosy z hlediska výživy a také pro svoji nevýraznou chuť, jelikož jedna z hlavních myšlenek byla i ta, že by fermentace mohla tuto chuť zvýraznit. Fermentace navíc měla způsobit i prodloužení trvanlivosti (Koh et al., 2021). Závěrem bylo zjištěno, že optimalizovaný fermentovaný vodný kefirový nápoj na bázi dýňového pyré, dosáhl dobré celkové přijatelnosti a vysoké životaschopnosti bakterií *Lactobacillus*, octových bakterií a kvasinek přibližně  $10^{12}$ ,  $10^9$  a  $10^9$  CFU. Celkově optimalizovaný produkt dosáhl vynikajících technologických vlastností a má potenciál pro průmyslové využití jako osvěžující vodní kefirový nápoj (Koh et al., 2021).

Další prozkoumanou možností ohledně využití zrn vodního kefiru byla fermentace v sójové syrovátce. „Syravátka“ ze sóji je vedlejším produktem při výrobě tofu a ve výrobním průmyslu se začíná naléhavě řešit eliminace znečištění životního prostředí, ke kterému dochází právě při výrobě. V této studii byla hodnocena kvalita a metagenomika vodního kefiru fermentovaného sójového syrovátkového nápoje. Výsledkem byla zvýšená antioxidační kapacita sójové syrovátky fermentované vodním kefirem, dále pak isoflavony (aglykon obsažen v sóje) byly po fermentaci významně zlepšeny. Fermentací vznikly nové aromaticky aktivní těkavé látky, které dodaly ovocnou příchut' a výsledný nápoj se dá považovat díky výsledkům a obsahu za nápoj funkční (Tu et al., 2019).

### **3.3 Použití zrn vodního kefiru na výrobu netradičních potravin a pro jiné, než potravinářské účely**

Cílem práce Lim et al. (2019) bylo pokusit se vyvinout luštěninový jogurt pomocí vodního kefiru jako startovací kultury, který by mohl nahradit klasické mléčné jogurty, a to z důvodu jejich nevhodné konzumace vegetariány a spotřebiteli s intolerancí na laktózy nebo jinými alergiemi na mléko a jeho součásti.

Bylo použito sójové mléko a mléko z černých fazolí. Mléka byla inkubována při 15 °C a 20 °C po dobu 24 hodin s přídávkem 35 g vodních kefirových zrn za vzniku kefirového jogurtu. Hodnoceno bylo přibližné složení, fyzikálně-chemické a mikrobiologické vlastnosti jogurtů.

Výrazně nižší pH vykazovaly jogurty při 20 °C a to i s celkovým obsahem rozpustných pevných látek a koncentrací sacharosy, což poukazuje na to, že fermentační proces prováděný při 20 °C měl vyšší účinnost než při 15 °C (Lim et al., 2019).

V porovnání mezi jednotlivými mléky, mléko z černých fazolí neprodukovalo lepší kefirové jogurty než sójové mléko (Lim et al., 2019).

Kefirový jogurt z černých fazolí, který byl fermentován při 20 °C, měl vyšší úroveň celkového počtu na mikroorganismů ( $2,05 \times 10^7$  CFU/ml), počtu kvasinek a plísní ( $6,95 \times 10^6$  CFU/ml) a počtu laktobacilů ( $8,30 \times 10^5$  CFU/ml) ve srovnání s jinými kefirovými jogurty na mléčné bázi. Obecně při 20 °C vznikl kefirový jogurt s lepšími technologickými vlastnostmi. Sójová mléka i mléka z černých fazolí by mohla být dobrými alternativními substráty pro výrobu kefirového jogurtu (Lim et al., 2019).

Kromě potravinářských účelů lze vodní kefirová zrna hypoteticky použít i pro možnost snížení těžkých kovů ve vodném prostředí. Tento výzkum byl zveřejněn v roce 2019 (Volpi et al., 2019) a zabýval se možností, že vodní kefirová zrna mohou působit jako absorbéry právě těžkých kovů. Kolonie vodního kefiru by mohly interagovat s těžkými kovy jak fyzicky, tak chemicky kvůli jejich struktuře a funkčním skupinám (Volpi et al., 2019).

Závěrem bylo konstatováno, že zrna vodního kefiru jsou schopna zadržet ionty těžkých kovů rozpuštěné ve vodném roztoku. Jejich metabolickou aktivitu ovlivňují okolní podmínky a to cukr, doba kontaktu, pH, pufr, poměr kefirová zrna/roztok kovu (Volpi et al., 2019).

Dále bylo uvedeno, že přítomnost sacharosy je nezbytná pro mikrobiální aktivitu, která indukuje retenci kovu v kyselém stavu. Ve skutečnosti publikovaná data ukazují, že ionty těžkých kovů jsou významně absorbovány na povrchu zrn vodního kefiru pouze v přítomnosti sacharosy během metabolické aktivity (Volpi et al., 2019).



## 4 TRENDY V APLIKACÍCH SCOBY

Kombucha je historicky velmi oblíbeným fermentovaným nápojem, který dle zdrojů pochází z dob dynastie Tsin ("Ling Chi"), asi 220 let př. n. l. a už tehdy byla ceněná pro své detoxikační a povzbuzující vlastnosti. Na přelomu 19. a 20. století, během druhé světové války, začal být tento nápoj užíván v Německu a v 50. letech 20. století se dostal do Francie a také do Francií ovládané severní Afriky, kde se jeho konzumace stala velmi populární. Klasické složení tohoto nápoje se skládalo z černého nebo zeleného čaje a cukru (Jaybalan et al., 2014).

V dnešní době lidé experimentují s fermentovaným médiem, ať už u první nebo druhotné fermentace. Kombucha pronikla i do prodejního řetězce a stala se velmi oblíbenou jak pro svoji chuť, tak i pro možné zdravotní benefity. V této kapitole budou uvedena zajímavá fermentační média pro výrobu nápoje kombucha.

### 4.1 Fermentace SCOBY v bylinných čajích

Následná studie se zabývala fermentací SCOBY ve vybraných bylinných výluzích.

Běžný kombuchový zákys se nazývá SCOBY. Jelikož bylinné násady nejsou pro kombuchy typických místem k růstu, bylo potřeba zpracovat výzkum s použitím různých bylinných čajů, aby se zjistila kvalita jeho inhibiční síly proti bakteriím a jeho kvalita ve srovnání s kombuchou v čaji *Camelia sinensis* (čajovník čínský). Cílem bylo poznat kvalitu kombuchy s parametrem pH, tloušťkou natě, celkovou kyselostí a její inhibiční silou vůči bakteriím *Escherchia coli* a *Staphylococcus aureus* (Primiani et al., 2018). Byly použity následující bylinné a jiné čaje:

- zelený čaj (*Camellia sinensis*),
- čaj z růžovek (*Rosacea*),
- čaj z mangostanových slupek (*Garcinia mangostana*),
- čaj z listů soursopu (*Annona muricata*),
- čaj z listů moringy (*Moringa oleifera*).

Bylo zjištěno, že zelený čaj a čaj z růžovek mají optimální vliv na růst kombuchy (tloušťka nati 4,63 cm, naopak nejhůře vyšel čaj z mangostatových slupek, kde tloušťka nati zůstala na 0,35 cm (Primiani et al., 2018).

Další studie pojednávala o fermentaci pomocí násady SCOBY ve slazených dubových bylinných nálevech z listů (Vázquez-Cabral, 2014). Nejprve byly sesbírány a usušeny dubové listy (*Quercus resinosa*), které byly následně fermentovány SCOBY, která byla připravena z černého čaje (1–2 %) oslazeného sacharosou (5–10 %), naočkovaného předem fermentovaným tekutým vývarem (10–20 %) a inkubovány při 25–37 °C po dobu 7–12 dnů. Bylo zjištěno, že *Q. resinosa* listy, jako nedřevěný produkt mohou být alternativním zdrojem substrátů pro výrobu funkčních fermentovaných nápojů. Byly stanoveny podmínky fermentace pro získání analogů kombuchy z nálevů z dubových listů (Vázquez-Cabral, 2014).

## 4.2 Fermentace SCOBY v ovocných šťávách

Ve studii Zubaidach et al. (2018) bylo SCOBY aplikováno do jablečných šťáv různých odrůd. Obecně se kombucha vyrábí z černého čaje a cukru. Bylo provedeno mnoho výzkumů s cílem zvýšit funkční hodnotu kombuchy nahrazením černého čaje jinými surovinami, které obsahují vysoké množství přírodních antioxidačních látek. Cílem tohoto výzkumu bylo poznat fyzikální, chemické a mikrobiologické vlastnosti kombuchy z různých odrůd jablečné kombuchy (Zubaidach et al., 2018).

Použité odrůdy jablek: *Anna, Fuji, Grenny Smith, Manalagi, Red delicious, Rome Beauty, Royal Gala*. Jablka byla upravena a nakrájena na malé kousky, následně byla doplněna vodou v poměru 1:2, směs byla poté míchána a následně filtrována za vzniku jablečné šťávy. Tato šťáva byla následně přislazena 10 % (w/w) třtinovým cukrem, pak pasterována (65 stupňů 30 minut). Na závěr byla přidána SCOBY kultura v množství 10 % (w/w) a poté se zakryly látkou. Kvašení probíhalo 14 dní v temnu při pokojové teplotě. Výsledek analýzy surovin ukázal, že mezi odrůdami jablek nebyl významný rozdíl v obsahu cukru, celkových kyselin, pH a celkového fenolu (Zubaidach et al., 2018). Dle studie Zubaidach et al. (2018) bylo SCOBY fermentováno v dračím ovoci (*Salak*). Kombucha hadí ovoce je nápoj ze slazené hadí ovocné šťávy fermentovaný pomocí násady SCOBY. Výzkum Zubaidach et al. (2018) byl zaměřen na poznání změn chemických vlastností kombuchy z různých kultivarů

hadího ovoce (Obr. 3) během fermentace. Byly použity tyto druhy hadího ovoce: (Zubaidach et al., 2018).

- salak *Suwaru*,
- salak *Madura*,
- salak *Pondohasalak Bali*.



**Obrázek 3.** Dračí ovoce – *Salak* ( Wirunga, 2019).

Výsledky ukázaly, že došlo ke změnám v chemických charakteristikách, ke snížení pH, celkového cukru a celkového množství rozpustných pevných látek, dále pak ke zvýšení fenolických látek, ke zvýšení antioxidační aktivity, která vykazovala významné hodnoty během fermentace. Nejlepší hodnoty byly získány z hadího ovoce Salak Suvaru s celkovou kyselostí 1,64 %, pH 3,22 a celkovým obsahem cukru 7,76 % (w/w), celkový obsah rozpustné sušiny 12,88 °Bx, celkový fenol 535,59 mg/l GAE a antioxidační aktivita 88,18 % (Zubaidach et al., 2018).

Ve studii Watawana et al. (2016) bylo zkoumáno posílení antioxidačních a inhibičních aktivit škrobové hydrolázy pomocí kokosové vody, která byla fermentována SCOBY kulturou.

Královský kokos, který byl při fermentaci použit, je odrůda, která nese oranžové nebo žluté plody. Vodnatá šťáva v ovoci je velmi oblíbeným a výživným nápojem v tropech, a to

z důvodu bohatého zastoupení sacharidů, vitamínů, aminokyselin a minerálů a zároveň má chladivý účinek na organismus (Watawana et al., 2016).

Výsledkem fermentace SCOBY v kokosové vodě z královského kokosu bylo zjištění, že došlo ke zvýšení antioxidačních a škrobových inhibičních vlastností nápoje.

U Fermentovaného vzorku byl naměřen významný pokles pH, celkové zvýšení obsahu fenolů a nárůst antioxidační aktivity. Inhibiční aktivity škrobové hydrolázy ve fermentovaném nápoji se notně zvyšovaly a to do 7. dne fermentace. Celkově studie zdůrazňuje zlepšení antioxidačních vlastností a inhibičních vlastností škrobové hydrolázy vody z kokosového ořechu v důsledku fermentace pomocí SCOBY (Watawana et al., 2016). Při výrobě vín dochází k likvidaci odpadních vod z čiření moštu, proto ve výzkumu Vukmanovic et al. (2020) byla vyzkoušena fermentace těchto vod pomocí SCOBY násady. Výtok z čiření moštu z výroby vína byl použit jako jediné médium pro fermentaci kombuchy. Obvykle se tato odpadní voda likviduje v komunální kanalizaci. Tento způsob využití a čištění odpadních vod je ekologicky přínosný. Počáteční substrát pro kultivaci byl připraven zředěním sterilizovaného vinařského odpadu na 70 g/l celkových cukrů za použití převařené vody z vodovodu (Vukmanovic et al., 2020). Startér Kombuchy byl připraven s použitím černého čaje a sacharosy a přidáno 10 % (w/w) k výchozímu substrátu. Fermentace probíhala při 25°C. Nápoj byl vhodný ke konzumaci po 6 dnech. Získaný produkt kombucha měl příjemnou chuť s tóny vína. Vyrobený nápoj měl ve srovnání s tradiční kombuchou na bázi černého a zeleného čaje vynikající schopnost pohlcovat radikály DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) a redukovat sílu. Významná byla také schopnost pohlcovat hydroxylové radikály. Byly detekovány různé organické kyseliny. Obsah kyseliny askorbové byl v den konzumace 3,6 mg/l (Vukmanovic et al., 2020).

### 4.3 Fermentace SCOBY v netradičních médiích a jiné použití

Ve studii Afiaty et al. (2020) byla SCOBY fermentována v černém česneku (Obr. 4). Česnek je rostlina, která se využívá jako alternativní lék na několik onemocnění, jako je hypertenze, hypercholesterolemie, diabetes, a má farmakologický potenciál jako antibakteriální, antihypertenzní a antitrombotický prostředek. Česnek obsahuje nejméně 33 sloučenin, několik enzymů, 17 aminokyselin a některé minerální látky, např. selen. Černý česnek je česnek skladovaný nebo zahříván při určité teplotě a kontrolované vlhkosti po dobu několika dnů. Na základě výše uvedeného potenciálu je cílem této studie prozkoumat

kombinaci těchto složek (účinky česneku, čaje a kombuchy) s ohledem na vlastnosti černého česneku, který fermentuje čajová kombucha (Afiaty et al., 2020).

Černá česneková kombucha se používá k namáčení česneku po dobu 7 dní. Následně se SCOBY fermentovala v tomto daném médiu v časových intervalech 0, 7, 14, 21 a 28 dní.

Výsledky šetření rozptylu ukázaly, že doba stárnutí a fermentace významně ovlivňuje obsah flavonoidů, dále bylo šetřením rozptylu zjištěno, že doba stárnutí a fermentace významně ovlivnily hladinu antioxidantů (Afiaty et al., 2020).



**Obrázek 4.** Černý česnek (Mlčoch, 2018).

Další zajímavou studií o použití SCOBY násady byla fermentace sójového mléka. Sójové boby jsou celosvětově stále populárnější díky svým vysoce kvalitním bílkovinám a esenciálním mastným kyselinám, bohatému obsahu vlákniny, kvalitě bez laktózy, nízkému obsahu cholesterolu a velkému množství bioaktivních fenolických sloučenin, minerálů, vitamínů, volného cukru, saponinů a peptidů (Xia et al., 2019).

Sójové boby se často konzumují ve formě sójového mléka, tofu, sójové mouky nebo jako fermentované produkty. Lidé s alergií na mléko a nesnášenlivostí laktózy je používají jako alternativu mléčných výrobků a v případě tofu, vegetariáni, jako náhražku masa. Sójové semeno obsahuje přibližně 1–2 % rafinosy a 3,5–4,5 % stachyosy. Mírný příjem těchto oligosacharidů je spojen s probiotickou aktivitou, hypotenzním působením, imunitní aktivitou, ochranou jater a inhibicí rakoviny tlustého střeva. Rafinosa a stachyosa jsou však nestravitelné enzymy přirozeně produkovanými v tenkém střevě člověka, protože savci postrádají  $\alpha$ -galaktosidasu, která tyto oligosacharidy hydrolyzuje, a tak příliš velký příjem způsobuje nadýmání, průjem a další poruchy. Mikrobiální fermentace je účinnou metodou pro eliminaci rafinosy a stachyosy v sójových produktech kvůli produkci  $\alpha$ -galaktosidasu.

Cílem práce bylo zjistit možnost eliminace těchto nepříznivých účinků na tělo díky fermentaci pomocí kombuchy (Xia et al., 2019).

Bylo zjištěno, že fermentace sójového mléka pomocí násady SCOBY může výrazně zvýšit obsah celkových fenolů a některých fenolických sloučenin a vitamínů a následně zvýšit antioxidační aktivitu a schopnost prevence diabetu. Všechny tyto výsledky naznačují, že sójové mléko fermentované SCOBY, může výrazně zlepšit zdraví prospěšné vlastnosti sójového mléka.

Pro příklad dalšího použití lze dle studie Emil Janowitz (2020) SCOBY využít i pro syntézu celulosy. Bakteriální celulóza (BC) je extracelulární metabolit mnoha bakteriálních druhů. Jedná se o biopolymer s výjimečnými materiálovými vlastnostmi, například bez příměsí jako je pektin, lignin nebo hemicelulóza, s vysokou pevností v tahu a velkou kapacitou nasávání vody. Cesta syntézy celulosy u bakterií je složitá a skládá se z několika fází. Substráty v biosyntéze mohou být glukosa, fruktosa, ethanol, bakterie octového kvašení, kyselina citrónová nebo glycerol (Emiljanowitz, 2020).

Enzymatické přeměny vedou ke vzniku celulózových fibril, které se vzájemně spojují za vzniku řetězců, poté makrofibril a nakonec 3-D struktury asi 1000 samostatných glukánových řetězců. BC má vynikající vodní kapacitu, pojme až 200krát více vody než jeho suchá hmota. Tepelná stabilita BC vyplývá z jeho vysoké krystalizace. Tato vlastnost umožňuje sterilizaci BC při 121 °C a to způsobuje, že má převahu nad jinými polymery, které obvykle mění své vlastnosti nad 100 °C (Emiljanowitz, 2020).



## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**



## 5 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo optimalizovat postup výroby fermentovaného nápoje pomocí SCOBY a vodních keřirových zrn. U vzniklých nápojů byly sledovány vybrané parametry po fermentačním procesu. Jako fermentační medium pro obě kultury byla vybrána šťáva z červeného grapefruitu (*Citrus paradisi*). Dále byla provedena základní chemická a fyzikální analýza.

Dílčí cíle:

- Vyrobit vzorky vodního keřiru a kombuchy aby byl jeden od každého druhu (TIBI, SCOBY) nativní, to znamená s přirozeným obsahem sacharosu z nápoje a sekundární vzorky obohatit přísávkem sacharosu na požadovanou výslednou refraktometrickou sušinu.
- Provést u vzorků kombuchy a vodního keřiru základní analýzy a měření, stanovení celkového počtu rozpuštěných látek v kapalině, stanovení pH, určení refraktometrické sušiny, a to v průběhu pěti denní fermentace.
- Určit pomocí přístroje Alcoalyzer Anton Paar ve stejných časových intervalech údaje jako obsah ethanolu, zdánlivý a reálný extrakt, hustota, zdánlivý a reálný stupeň fermentace a energetickou hodnotu, a to u vzorků Tibi krystalů tak i u kombuchy, měření bylo prováděno v pravidelných intervalech v průběhu pěti denní fermentace.
- Provést ve stejných časových intervalech v průběhu pěti denní fermentace měření reologických vlastností vzorků nápojů.
- Provést odběr vzorků u konečných fermentovaných nápojů a podstoupit u nich analýzu na přítomnost BA.
- Porovnat vzorky pomocí senzorické analýzy.
- Vyhodnotit a zpracovat výsledky analýz u všech vzorků do vhodných grafů a tabulek a vyvodit závěr.

## 6 METODIKA PRÁCE

V této kapitole, metodika práce, jsou uvedeny veškeré potřebné suroviny a přístrojové a jiné vybavení, které byly použity pro výrobu modelových vzorků a použity i při následné analýze a vyhodnocování za daných laboratorních podmínek. Dále jsou uvedeny principy a postupy jednotlivých měření.

### 6.1 Materiál a metody

Zde jsou sepsány konkrétní pomůcky, přístrojové vybavení a suroviny potřebné k výrobě daných druhů fermentovaných nápojů.

#### 6.1.1 Suroviny pro výrobu nápoje z vodního kefiru a z kombuchy

- vodní kefirová zrna (vypěstována v domácích podmínkách),
- kombucha násada (vypěstovaná v domácích podmínkách) spolu s mateční suspenzí, která byla tvořena tradičně v černém čaji se sacharosou,
- sacharosa (Cukrovar Vrbátky, ČR),
- 100% podíl ovocné složky z červených grapefruitů z koncentrátu (Maspex Czech s.r.o., ČR) Výživové hodnoty ve 100 ml: Energetická hodnota 175 kJ, tuky 0,0 g z toho nasycené mastné kyseliny 0,0 g, Sacharidy 9,5 g z toho cukry 9,5 g, Bílkoviny 0,0 g, Sůl 0,0 g.

#### 6.1.2 Přístroje a pomůcky

- digitální Váhy Kern PFB 1200-2 (Kern & Sohn GmbH, Německo),
- Centrifuga EBA 21 (Hettich, Německo),
- pH metr Foodcare HI 99161 (Hanna Instruments, USA),
- Digitalní refraktometr Kern ORF 45BE (Kern & Sohn GmbH, Německo),
- Alcolyzer Anton Paar (Anton Paar GmbH, Rakousko),

- Vortex V-1 plus (Biosan, USA),
- HAAKE RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific, USA),
- sklenice typu OMNIO 3,00 L,
- plastové zkumavky s víčky o objemu 15 ml a 50 ml,
- plastové kuchyňské síto,
- plastová naběračka a plastová lžíce.

## 6.2 Výroba modelových vzorků vodního kefíru a kombuchy

Celkem se výroba prototypových vzorků skládala ze dvou vzorků nápoje, fermentovaného pomocí Tibi krystalů a ze dvou vzorků, které byly fermentovány pomocí kombuchy, za předpokládaného vzniku fermentovaných nápojů.

Každý z těchto vzorků byl vsazen do připraveného nápojového média, jehož objem činil 3 litry 100 % grepové šťávy z koncentrátu.

Modelové vzorky pod označením vzorek TB a vzorek KMB byly bez přídavku sacharosy. Naopak u vzorků TBS a KMBS byla přidána sacharosa až do výsledné refraktometrické sušiny (RS), která byla stanovena na 20 % w/w.

### 6.2.1 Příprava vodního kefíru

Nejprve bylo provedeno očištění lahví, a to pomocí parního přístroje, tedy párou při vysoké teplotě, aby se předešlo případnému mikrobiálnímu kažení a znehodnocení vzorků.

Následně bylo do každé skleněné láhve o objemu 3 litry přidáno 100% šťávy z červeného grepu. Po přípravě základního nálevu byla změřena RS, aby byla určena prvopočáteční hodnota obsahu sacharosy ve vzorku a také z důvodu, aby mohl být vzorek TBS upraven pomocí přídavku sacharosy na obsah 20% (w/w) RS na rozdíl od vzorku TB, kde byl vzorek v nativní podobě bez přídavku sacharosy. Po úplném rozpuštění přídavku sacharosy byly oba nálevy zaočkovány 90 g zrny vodního kefíru.

### 6.2.2 Příprava kombuchy

Tak jako u vodního kefiru bylo prvním krokem při výrobě nápoje kombuchy ze 100% šťávy z červeného grepu očištění lahví.

Následujícím krokem byla příprava potřebného nálevu pro množení SCOBY a k výrobě fermentovaného nápoje.

K dispozici byly dva vzorky kombuchy, které byly vypěstovány v domácích podmínkách. Do očištěných lahví, o objemu 3 litrů, bylo nachystáno fermentační médium složené ze stoprocentní šťávy z červeného grepu. Vzorek KMBS byl upraven pomocí přídavku sacharosy, aby bylo docíleno potřebné hodnoty, které bylo určeno na 20% RS oproti vzorku KMB, kde byla RS zachována v nativním stavu.

Před samotným zaočkováním násadou SCOBY bylo potřeba přidat do fermentačního média nálev z původního nápoje kombuchy, kde byly mateční násady kombuchy pěstovány.

Po úplném rozpuštění sacharosy bylo do každé láhve přidáno 150 ml matečního původního nálevu, který byl složen z extraktu černého čaje s obsahem sacharosy.

K přídavku původního nálevu se přistoupilo z důvodu prvotního okyselení nápoje, jako preventivní ochrana při napadení cizí mikroflórou a také z důvodu nastartování a urychlení fermentace nápoje.

Posledním krokem při přípravě vzorku nápoje kombucha bylo zaočkování SCOBY plátu do připraveného média. Po komplexní přípravě nálevu i s násadou byly fermentační nádoby umístěny do místnosti bez přístupu světla a fermentace probíhala při pokojové teplotě.

## 6.3 Fyzikálně chemická analýza

Během přípravy fermentovaných vzorků vodního kefiru a kombuchy byla provedena základní fyzikálně-chemická analýza, a to v určitých časových pravidelných intervalech. V rámci odběrů daných vzorků byla stanovena měrná elektrická vodivost, pH, refraktometrická sušina (RS) a dále byly pomocí přístroje Alcoalyzer Anton Paar stanoveny parametry jako hustota a obsah ethanolu ve vzorcích. Díky těmto zjištěným parametrům software přístroje Alcoalyzer Anton Paar vygeneroval další údaje, jako jsou reálný a zdánlivý extrakt, reálný a zdánlivý stupeň fermentace, kalorická hodnota v kJ. Dalším krokem bylo provedení odběrů vzorků pro stanovení BA.

Pomocí vpichového pH metru bylo u vzorků změřeno a určeno pH (pH meter, HI 99161, Foodcare, Hanna Instruments, USA) a to při přirozené laboratorní teplotě  $25 \pm 2$  °C. Měření každého vzorku bylo provedeno třikrát ( $n=3$ ) a provádělo se u vzorků, které ještě nebyly odstředěné.

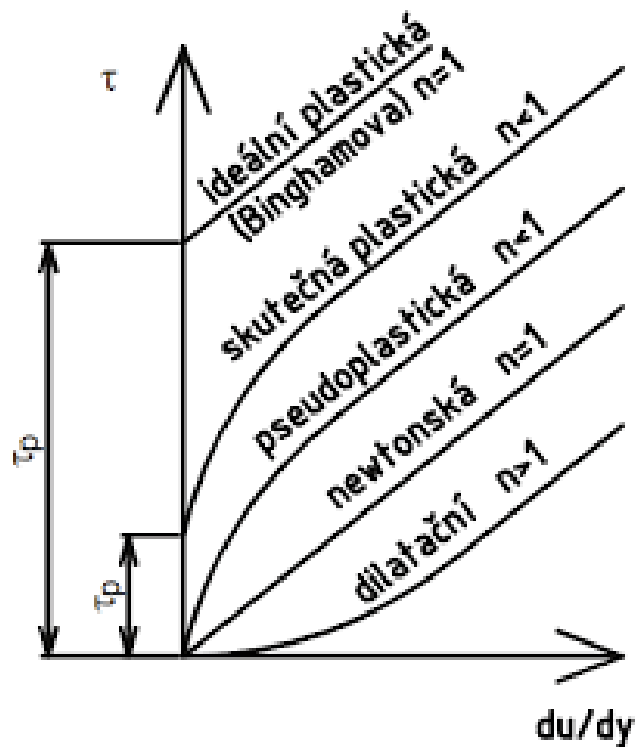
Stanovení hodnot konduktivity bylo provedeno pomocí elektrody konduktometru (CyberScan CON 110, Eutech Instruments, Thermo Scientific, USA). Samotné měření bylo zajištěno před odstředěním vzorků a u každého vzorku bylo provedeno třikrát ( $n=3$ ). Hodnoty konduktivity byly měřeny v jednotkách S/m.

Pomocí digitálního refraktometru (Digital refractometer Kern ORF 45BE, Kern & Sohn GmbH, Německo) byly změřeny hodnoty refraktometrické sušiny. Před samotným měřením byly vzorky odstředěny na centrifuze při 6000 ot. /min po dobu 10 minut. Samotné měření spočívalo v nanesení malého množství daného vzorku, pomocí laboratorního kapátka, a byla změřena refraktometrická sušina. Měření bylo opět provedeno třikrát ( $n=3$ ) a to u každého vzorku fermentovaného nápoje.

Obsah ethanolu, hustoty a ostatní parametry byly změřeny pomocí přístroje Alcoalyzer Anton Paar Density Meter DMA 4500 M a to konkrétně na Alcoalyzer Beer ME modulu. Měření bylo provedeno na základě principu selektivní absorpční metody, tedy blízké infračervené spektroskopie (NIR). Zdánlivý a reálný stupeň fermentace, zdánlivý a reálný extrakt a energetická hodnota byly určeny a dopočítány pomocí přístroje až po základním měření (měření ethanolu a hustoty). Před stanovením byly vzorky centrifugovány (odplyněny) při 6000 otáčkách po dobu 10 minut. Měření bylo provedeno třikrát ( $n = 3$ ).

## 6.4 Reologická analýza

V rámci reologické analýzy byly sledovány dvě veličiny, a to viskozita modelových fermentovaných vzorků a smykové napětí neboli mez toku. Měření probíhalo na rotačním reometru HAAKE RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific, USA) a použitá geometrie byla válec-válec. Objem vzorku pro každé měření byl 35 ml a měření bylo provedeno při laboratorní teplotě. Měření bylo u každého vzorku provedeno dvakrát. Model Oswalda de Waele byl použit k popisu reologického chování vzorků. Tento model slouží zejména k popisu pro látky dilatantní a pseudoplastické. Označován bývá také jako model Power Law nebo model mocninový. Pokud je index tokového chování  $n$  větší než 1, látka je dilatantní, pokud je index tokového chování naopak menší než 1, jedná o látku pseudoplastickou (Obr. 5).



**Obrázek 5.** Tokové křivky kapalin (Stejskal, 2013).

Rovnice k modelu Oswalda de Waele

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

$\tau$  - smykové napětí

$K$  – součinitel konzistence

$n$  – index tokového chování

$n > 1$  – látka je dilatantní

$n < 1$  – látka je pseudoplastická

U ovocných džusů (v našem případě použítá 100% šťáva z koncentrátu červeného grapefruitu) je snahou výrobců, aby vykazovaly tyto ovocné šťávy stejnou viskozitu jako ty přírodní. K tomuto účelu jsou používána zahušťovadla, nejčastěji na bázi derivátů celulózy. Ty zvyšují viskozitu disperzního prostředí. Nevýhodou je, že nezvyšují pouze viskozitu, ale

také viskoelasticitu, která není kladně hodnocená v testech spotřebitelů, jelikož má neblahý vliv na výslednou chuť (Dlabač, 2018).

## 6.5 Biogenní aminy

Podle práce od Dadákové et al. (2009) byly vzorky, odebrané na stanovení BA, derivatizovány pomocí dansylchloridu. Dansylchlorid je činidlo, které reaguje s primárními aminoskupinami v alifatických i aromatických aminech, může reagovat i se sekundárními skupinami aminů. Následně byla provedena separace a detekce BA a to na rozhraní reverzních fází za účinku vysokoúčinné kapalinové chromatografie (RP-HPLC) s hodnotami UV detekcí ( $\lambda = 254$  nm). Vzorky na stanovení byly odebírány v objemu 1 ml a byly vkládány do derivatizačních vialek. Následně byl přidán standart, a to pomocí pipety s objemem roztoku 100  $\mu$ l s koncentrací 5 g/l, 1,5 pufu o vysokém pH, dále pak roztok o objemu 2 ml, který obsahoval již výše zmíněný dansylchlorid, který byl uložen v acetonu. Následovalo 20 hodin třesu v temné komoře. Posledním krokem k celkové reakci bylo přidání prolinu o objemu 200  $\mu$ l, kde bylo potřeba ještě dalších 60 minut třepání.

Každý vzorek byl po 1 ml odpipetován z mikrozkušavky do derivatizačních vialek. Přidáno bylo dále 100  $\mu$ l vnitřního standardu o koncentraci 5 g/l, 1,5 ml karbonátového pufru pH 11,1 – 11,2 (uhličitanu sodného a draselného) a 2 ml roztoku dansylchloridu v acetonu o koncentraci 5 g/l. Následovalo odpipetování 1 ml do vialky, tento objem byl následně odpařen pod dusíkem při teplotě 60 °C. Suchý odparek byl zředěn 1,5 ml acetonitrilem. Po skončení procesu byly vzorky filtrovány a následně byla provedena samotná analýza na zařízení RP-HPLC s UV/VIS DAD detektorem (Agilent Technologies; autosamplerem LabAlliance SHLA84000). Konkrétní stanovené biogenní aminy byly tyramin (TYM), spermin (SPM), Tryptamin (TRY), fenyletylamin (PEA), Putrescin (PUT), kadaverin (CAD).

Nejběžněji vznikají BA při fermentačních procesech. Můžeme je tedy detekovat například ve zrajících sýrech, fermentovaných masných výrobcích, vínu nebo pivu a ostatních fermentovaných nápojích a potravinách. BA nevznikají pouze při fermentaci, ale také při nedodržení hygienických podmínek při výrobě a skladování potravin. Z BA jsou zdravotně nejzávažnější histamin, tyramin a fenylethylamin (Janoušková, 2010).



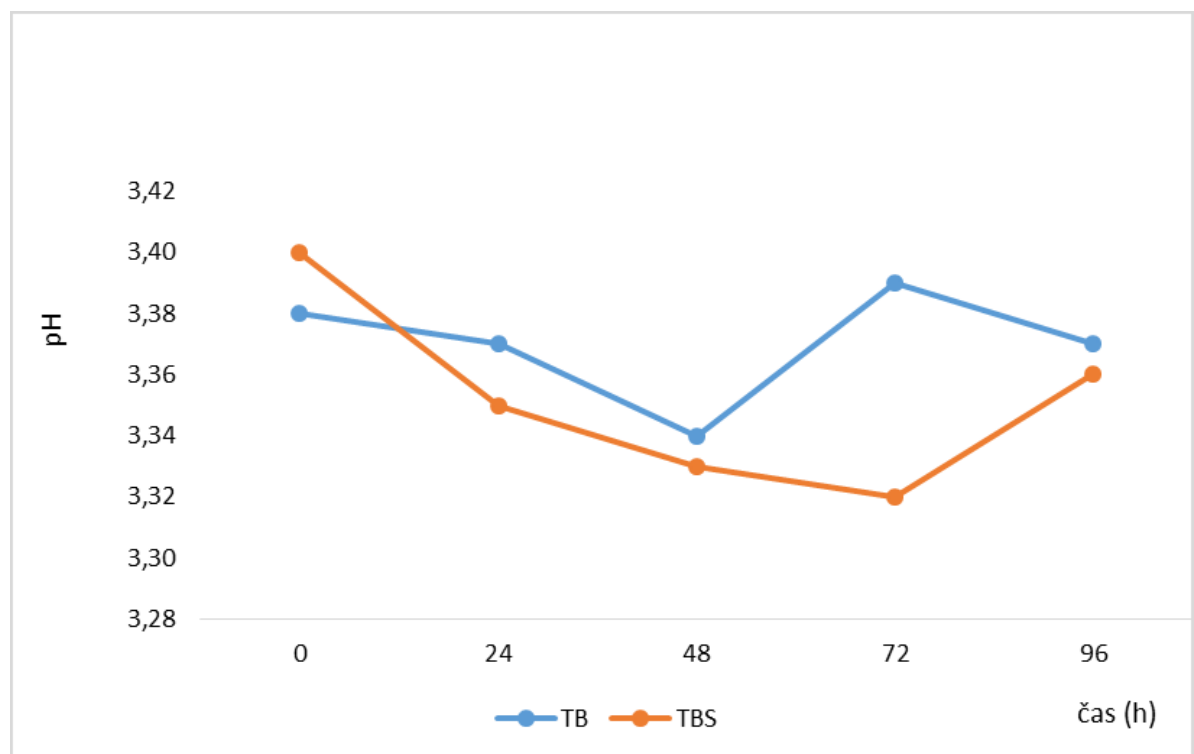


## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

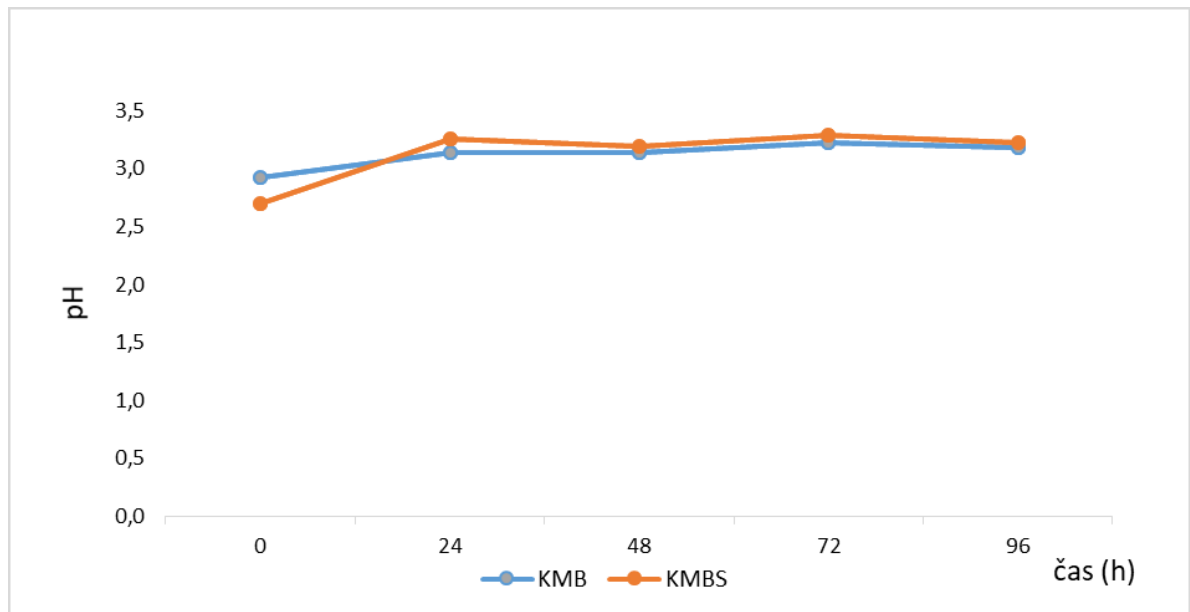
### 7.1 Vyhodnocení fyzikálně chemické analýzy

#### 7.1.1 Výsledky stanovení pH

Vzorky vodního kefiru a kombuchy byly v daných časových bodech a to v 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h použity na stanovení pH, refraktometrické sušiny a měrné elektrické vodivosti. Hodnoty pH, naměřené u všech čtyřech vzorků (2 vzorky vodního kefiru a dva vzorky kombuchy), jsou zobrazeny viz Obr. 6 .



**Obrázek 6.** Naměřené hodnoty pH u vodního kefiru.



**Obrázek 7.** Naměřené hodnoty pH u kombuchy.

Z grafu (Obr. 7) jasně vyplývá, že počáteční pH u vzorků kombuchy v grepové šťávě je nižší než u vzorků vodního kefiru v grepové šťávě. Výchozí hodnoty pH byly první den stanoveny u vzorků kombuchy na pH pod 3, což bylo pravděpodobně způsobeno tím, že na rozdíl od vodního kefiru, kde se nepřidává mateční nálev, se do vzorků kombuchy přidává, a těchto 100 ml ovlivnilo počáteční i výsledné pH daného fermentovaného nápoje. Když porovnáme samotné vzorky druhově mezi sebou, tak u vzorku vodního kefiru TBS, kde byl obsah sacharosy navýšen o 10 %, než u vzorku TB, bylo počáteční pH nižší pouze o hodnotu 0,04, přídavek sacharosy tedy neměl na počáteční pH téměř žádný vliv. Celkově vzorky vodního kefiru měly podobné pH po celou dobu, nebyly naměřeny a zaznamenány důležité měrné výkyvy daných hodnot. U vzorku TB se hodnoty pohybovaly v rozmezí od 3,37- 3,39, u vzorků TBS se hodnoty pohybovaly v rozmezí 3,32 až 3,4.

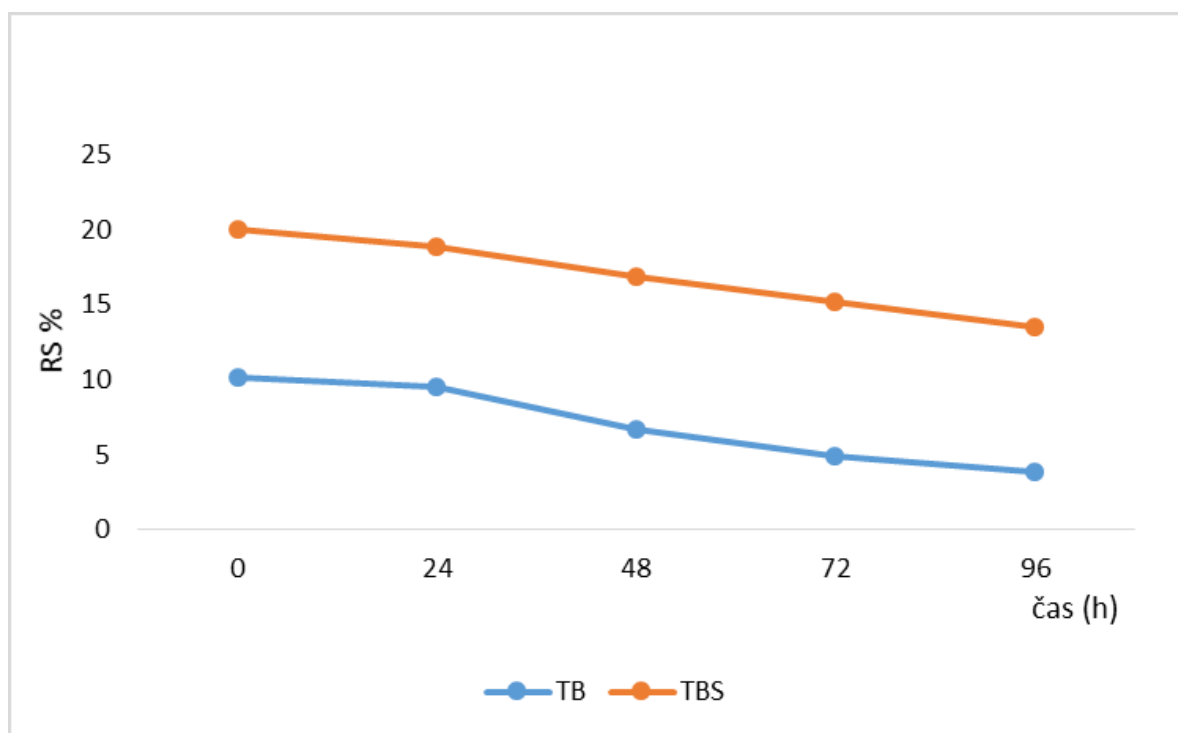
Z grafu (Obr. 6) tedy vyplývá, že v průběhu fermentace obou vzorků vodního kefiru nedošlo k významným změnám a poklesům hodnot pH. Při podobné studii (Laureys et al., 2014) se u nápoje z vodních kefirových zrn pH snížilo z počáteční hodnoty 4,26 na 3,45.

Jak již bylo výše zmíněno, u vzorků kombuchy, KMB a KMBS bylo počáteční nízké naměřené pH ovlivněno přídavkem matečního nálevu. Po ustálení se a při průběhu procesu fermentace, která probíhala v pěti dnech, se pH zvýšilo nad hodnotu 3 a již jen mírně kolísalo. Mezi samotnými vzorky kombuchy, ačkoliv byl opět jeden z nich s přídavkem sacharosy, nebyly patrné velké nebo významné rozdíly. U vzorku TB se pH pohybovalo

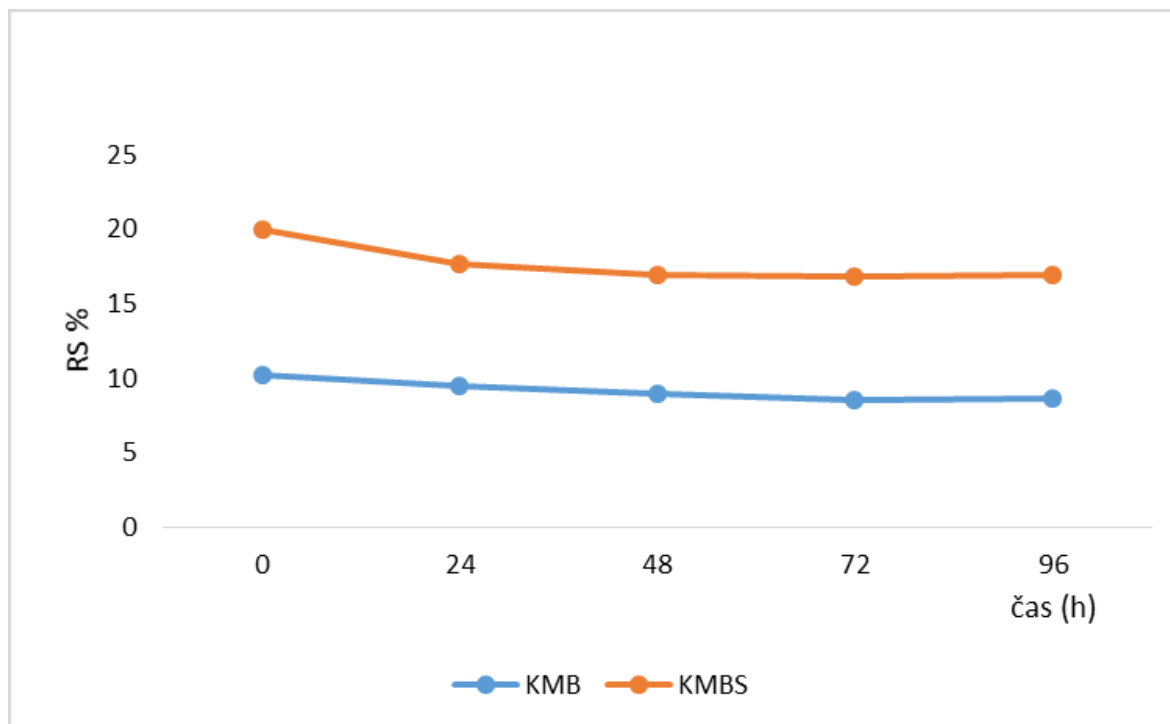
v rozmezí 2,92 až 3,22, u kombuchy TBS se pH pohybovalo v rozmezích 2,7 až 3,29. Všechny tyto výsledky a přesné časové intervaly u hodnot jsou uvedeny v grafech. Pro danou fermentaci zrn vodního kefiru a kombuchy v grepové šťávě neexistují v dostupné literatuře poznatky, se kterými by mohlo být provedeno srovnání výsledků měření pH. Jak je uvedeno ve studii (Neffe-Skocinska et al., 2017), během analyzovaného fermentačního procesu se pH ve všech nápojích Kombucha v průměru snížilo z 3 na 2,60 jednotek. Nízké pH může přispět ke snížení obecné sensorické kvality nápoje na nepřijatelnou úroveň.

### 7.1.2 Výsledky stanovení RS

Refraktometrická sušina (dále také RS) je veličina udávaná ve stupních Brix, kdy 1 °Bx odpovídá 1 g sacharosy na 100 g roztoku a uvádí se v jednotkách  $\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ . Naměřené hodnoty refraktometrické sušiny v  $\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$  v případě fermentovaného vodního kefiru a kombuchy jsou uvedeny v následujících grafech (Obr. 8 a 9).



**Obrázek 8.** Obsah refraktometrické sušiny u fermentovaných vzorků vodního kefiru v časovém rozmezí od 0 do 96 hodin.



**Obrázek 9.** Obsah refraktometrické sušiny u fermentovaných vzorků kombuchy v časovém rozmezí od 0 do 96 hodiny.

Jak je z výše uvedených grafů patrné (Obr. 8 a 9), pokles obsah refraktometrické sušiny se lišil hlavně mezi nápoji fermentovanými vodními kefirovými zrny a kombuchy. Rozdíly RS mezi stejnými vzorky nebyl tak markantní.

U fermentovaného vodního kefiru se obsah sacharosy značně lišil, při každém měření bylo možné porovnat spotřebu sacharosy v daném nápoji, a to díky aktivitě přítomných mikroorganismů, které pro svůj růst využívaly přítomné zkvasitelné cukry. Počáteční hodnota u vzorku TB byla stanovena na 10,2 % w/w RS a koncová hodnota byla naměřena na 3,9 % w/w RS. U vzorku TBS byla počáteční RS stanovena na 20,0 % w/w RS a koncová hodnota pak 13,5 % w/w RS.

U kombuchy poklesy refraktometrické sušiny nebyly tak znatelné. Dle výše zmíněných grafů je zřejmé, že u vzorku KMB byl pokles RS po 5 dnech fermentace zanedbatelný, naopak u vzorku kombuchy KMS byla činnost mikroorganismů zkvašujících sacharosu dvojnásobná. U vzorku KMB po 5 dnech fermentace došlo k poklesu RS pouze z 10 % w/w na 8,7 % w/w, u KMBS po 5 dnech fermentace byly změny hodnot z 20% w/w na 16,9 % w/w RS. V podobné studii (Yıkmış a Tuğgüm, 2019) byla taktéž RS v průběhu desetidenní

fermentace snížena jen nepatrně. Pokles je zanedbatelný patrně z důvodu přítomnosti hydrolyzovaných opticky aktivních látek, díky nimž narůstá RS (Yıkmış a Tuğgüm, 2019).

Z těchto dat dále vyplývá, že činnost mikroorganismů zkvašující sacharosu byla značně aktivnější u zrn vodního kefiru než u násady kombuchy.

### 7.1.3 Výsledky stanovení měrné elektrické vodivosti

Následným měřitelným parametrem bylo stanovení měrné elektrické vodivosti neboli konduktance. Elektrická konduktance je nespecifický souhrnný údaj všech rozpuštěných typů iontů (soli, kyseliny, zásady a některé organické látky) v roztoku. Tato technika stanovení není schopna rozlišit mezi různými druhy iontů. Je důležitým nástrojem pro monitorování a sledování široké škály různých typů kapalin, Slouží také ke stanovení koncentrace vodivých chemikálií (Vykoupal, 2016).

Tento údaj je převrácenou hodnotou měrného elektrického odporu (rezistivity). Konduktivita se značí pomocí řeckého písmena kappa –  $\kappa$  a její základní jednotkou je S/m (Vykoupal, 2016).

Čím je vyšší hodnota konduktance, tím hůře se vede systém (v našem případě kapalina) eklektického proudu a kapalina má vyšší obsah rozpustných látek.

Co se týče rozmezí hodnot Tibi bez přídavku sacharosy, hodnoty tohoto vzorku se pohybovaly v rozmezí od 8,25 S/m do 10,09 S/m u vzorku s přídavkem sacharosy byly hodnoty naměřeny od hodnoty 6,16 S/m do 6,93 S/m. V porovnání u těchto vzorků je patrné, že u vzorku TBS je hodnota konduktivity nižší, což by mohlo být zapříčiněno právě přídavkem sacharosy.

Výsledky lze porovnat se studií, kdy se fermentovala zrna vodního kefiru v kokosové vodě (Dwiloka et al. 2020), a dle těchto výsledků byl sledován podobný charakter hodnot. Celkově se dá říct, že hodnoty konduktance nebyly pro vodní kefir významné.

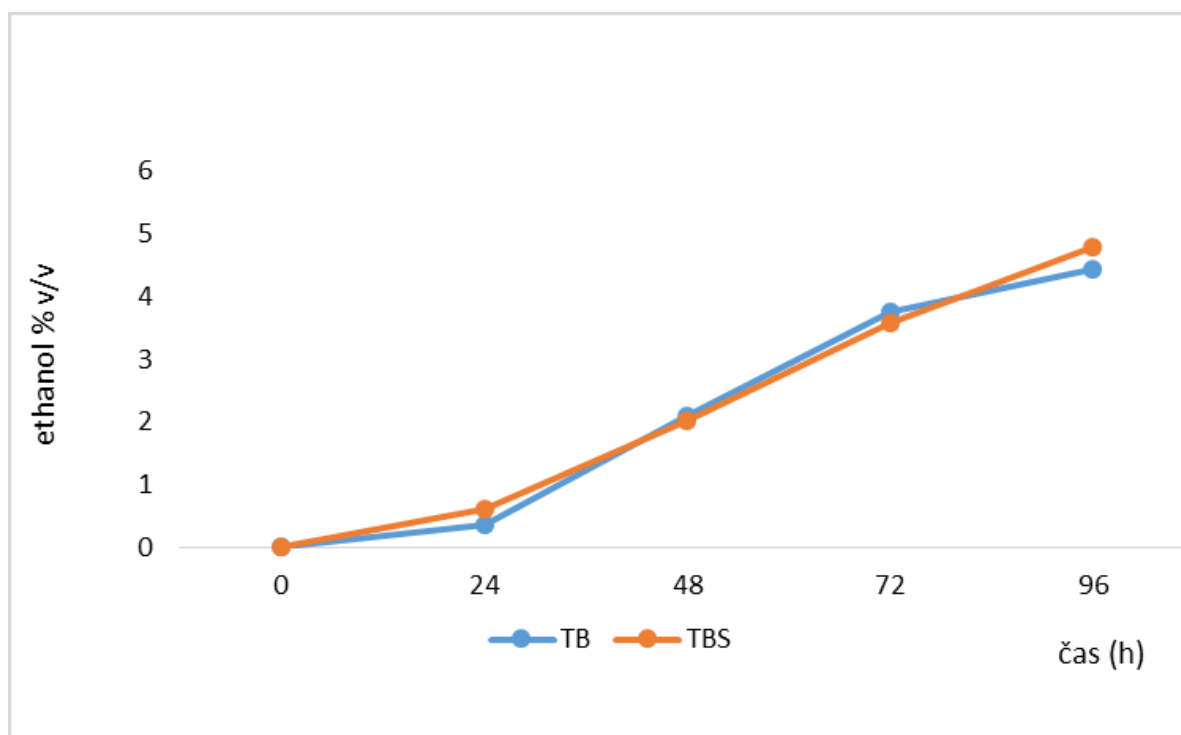
U vzorků kombuchy bylo porovnání podobné. Hodnoty u vzorku KMB bez přidané sacharosy se pohybovaly v rozmezí od 7,93 S/m do 9,24 S/m, naopak u KMBS byly hodnoty opět nižší, byly naměřeny v rozmezí od 5,23 S/m do 6,61 S/m.

Změny hodnot byly důsledkem měnícího se množství minerálních látek (rozpuštěných iontů) ve vodě rozpuštěných komponentů, elektrolytů, solí a jiných látek vyskytujících se ve vodě.

Během fermentace nápoje kombuchy zpravidla docházelo spíše k nárůstu minerálních látek, tedy obsahu konduktance, ale změny byly spíše stopového rázu (Sheng-Dun et al., 2013).

#### 7.1.4 Výsledky stanovení hustoty a ethanolu

Hustota a obsah ethanolu byly stanoveny pomocí přístroje Alcoalyzer Anton Paar. Od těchto stanovených prvotních hodnot byly dále softwarem daného přístroje určeny další potřebné hodnoty a to hodnoty reálného a zdánlivého stupně fermentace, reálného a zdánlivého extraktu a jejich energetická hodnota. Výsledky jsou uvedeny v následujících grafech. Na následujícím grafu (Obr. 10) jsou zobrazeny změny obsahu ethanolu ve vzorcích vodního kefiru.

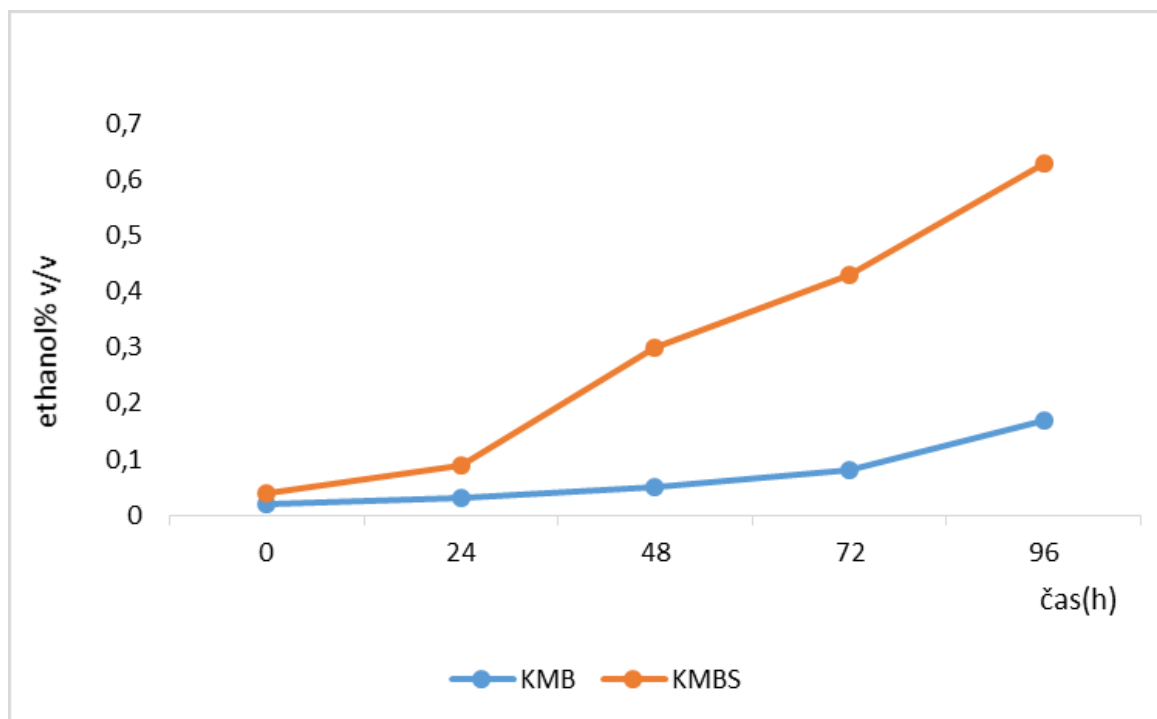


**Obrázek 10.** Růst obsahu ethanolu ve vzorcích vodního kefiru v grepové šťávě.

V případě vzorků TB byly změřeny hodnoty v rozmezí od 0,00- 4,44 % (v/v), u druhého vzorku vodního kefiru TBS byly hodnoty změřeny v rozmezí od 0,00- 4,79 % (v/v). Jak je z grafu a hodnot zřejmé, koncentrace ethanolu ve vzorcích vodního kefiru s časem exponenciálně roste. Výsledný obsah ethanolu přímo souvisí s poklesem refraktometrické sušiny ve vzorku, jelikož sacharosa obsažená ve vodním médiu je potřebný substrát

(zkvasitelný sacharid) pro přirozenou tvorbu ethanolu. V podobné studii Randazzo et al. (2016) se obsah ethanolu ve vodním keřiru z jablečné šťávy pohyboval v hodnotě 2,67 %.

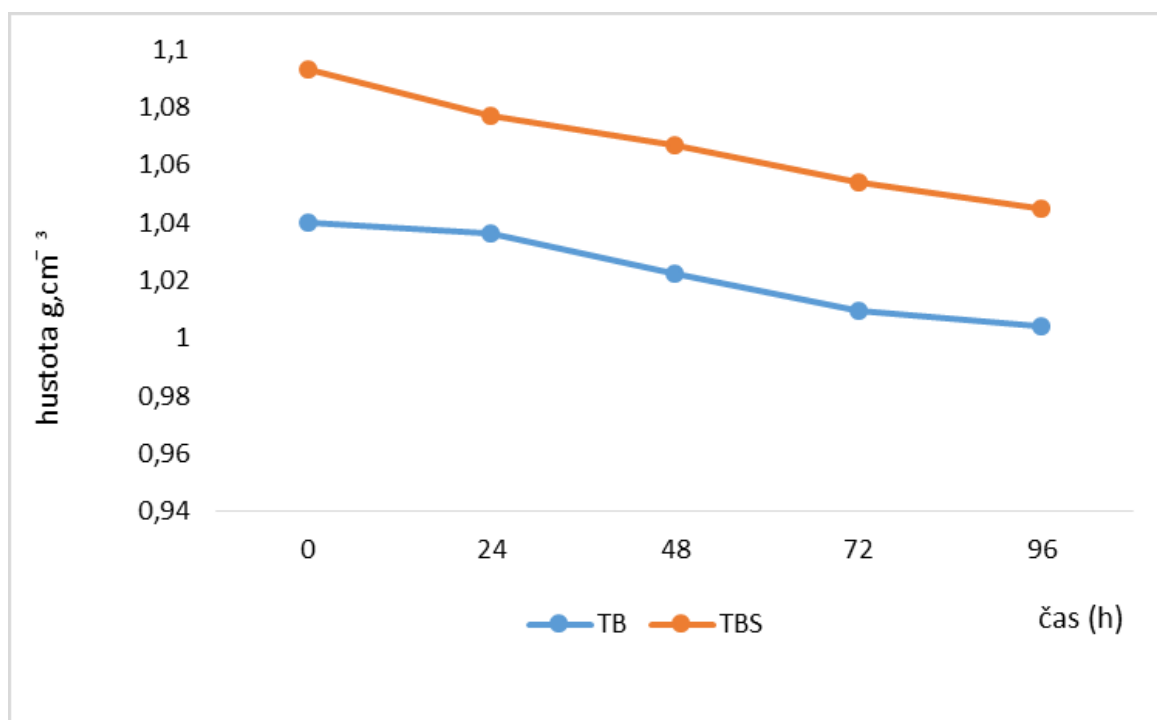
Při těchto vyšších hodnotách ethanolu ve vodním keřiru se dle vyhlášky č. 248/2018 Sb. jedná o alkoholické nápoje. Vodní keřir však není legislativou dále definován a upřesněn.



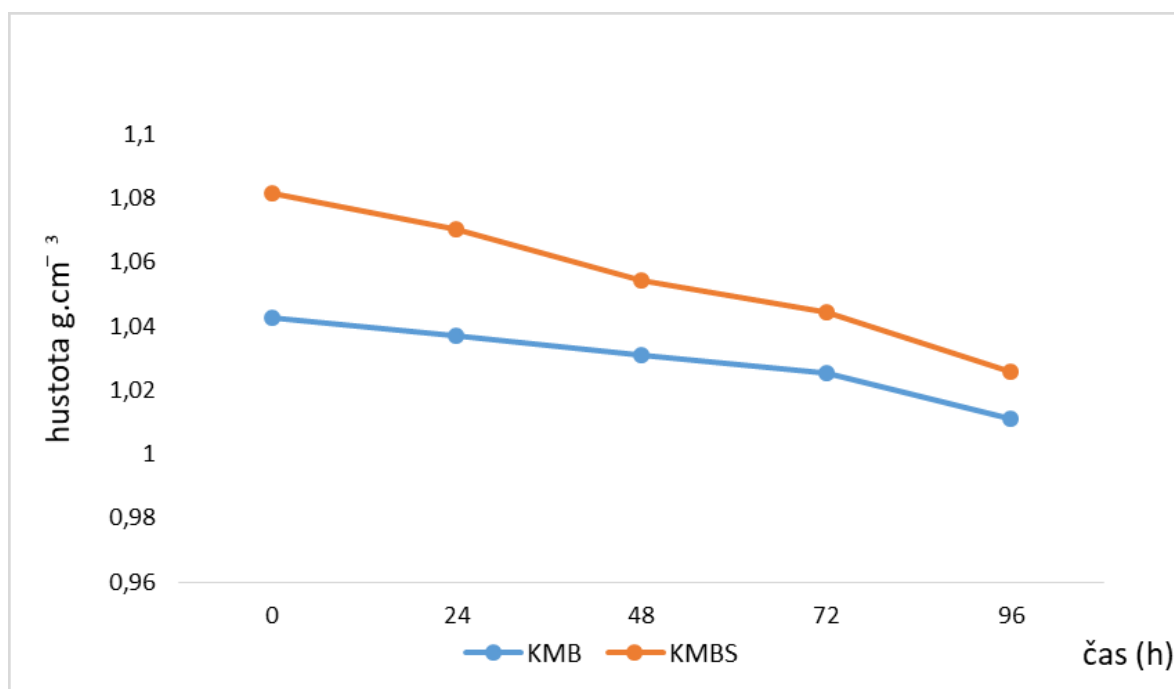
**Obrázek 11.** Růst obsahu ethanolu ve vzorcích kombuchy.

Obsah ethanolu u vzorků kombuchy byl oproti vzorku vodního keřiru zanedbatelný. Vzorek KMB obsahoval ethanol v rozmezí od 0,02 - 0,17 v/v a vzorek kombuchy KMBS 0,020-0,046 % v/v. V druhém případě, ve vzorku s přidavkem sacharosu, byl nárůst ethanolu díky přidavku zkvasitelných cukrů vyšší než u kombuchy v grepové šťávě bez přidavku sacharosu. I zde by se podle vyhlášky č. 248/2018 Sb. jednalo o alkoholický nápoj, jelikož obsah ethanolu překročil meze 0,5 % v/v. Podle studie (Vohra et al., 2019) se obsah ethanolu u prozkoumaných vzorků nápoje kombucha po desetidenní fermentaci pohyboval v rozmezí 0,6 % – 2,75% v/v.

Další sledovaný parametr u výše zmíněných fermentovaných nápojů byla hustota nápoje, která byla stejně jako obsah ethanolu měřena na přístroji Alcoalyzer Anton Paar.



Obrázek 12. Hustota u vodního kefiru.



Obrázek 13. Hustota u kombuchy.



V případě vzorků TB, kde se hodnoty pohybovaly v rozmezí od 1,0043 až 1,0403 g·cm<sup>-3</sup>, byl zřejmý pokles snížení hustoty v tomto vzorku fermentovaného vodního kefiru v grepové šťávě TB. Naopak u fermentovaného nápoje TBS s přidavkem sacharosy byly hodnoty v rozmezí od 0,99831- 1,0771 g·cm<sup>-3</sup> a hustota nápoje mírně klesala. Ke snížení hustoty u vzorků vodního kefiru došlo zřejmě z důvodu vysoké produkce etanolu a také snížení extraktu během fermentace (Kopečková, 2021).

U vzorku kombuchy v grepové šťávě bez sacharosy byly naměřeny hodnoty v intervalu od 1,0124-0,357 g·cm<sup>-3</sup>, docházelo tedy k mírnému snižování hustoty. U vzorku kombuchy KMS se hodnoty pohybovaly v rozmezí od 1,0266 – 1,0816 g·cm<sup>-3</sup>, kde nebylo pozorováno významného rozdílu v hustotě mezi počátkem fermentace a fermentovaném nápoji po 5 dnech, jelikož hodnoty byly kolísavé.

### 7.1.1 Další stanovené výsledky

Díky stanovení obsahu ethanolu a hustoty ve všech fermentovaných vzorcích bylo na přístroji Alcoalyzer Anton Paar možno vygenerovat další údaje jako je reálný extrakt (Er; % w/w) a zdánlivý extrakt (Ea; % w/w), dále pak reálný stupeň fermentace (Rdf; % w/w) a zdánlivý stupeň fermentace (Adf; % w/w) a energetická hodnota fermentovaných nápojů. Výsledky jsou znázorněny níže v tabulce (Tab. 1).

**TABULKA 1.** Naměřené hodnoty z přístroje Alcoalyzer Anton Paar.

Vzorek	Čas [hod]	Er [%w/w]	Ea [%w/w]	Rdf [%w/w]	Adf [%w/w]	Cal [kJ/100ml]
TB	0	10,53	10,53	0,00	0,01	163,30
TB	24	9,47	9,33	5,045	8,4	188,52
TB	48	6,95	6,22	32,30	38,70	154,73
TB	72	4,30	2,95	58,5	70,7	151,2
TB	96	3,23	1,59	69,09	84,16	150,21
TBS	0	0,02	0,02	0,00	4,68	0,33
TBS	24	19,52	19,31	4,44	5,01	329,35
TBS	48	17,42	16,73	14,94	16,98	324,40
TBS	72	14,95	13,75	25,83	30,2	315,68

TBS	96	13,27	11,62	36,05	41,75	317,55
KMB	0	8,02	9,03	0,00	0,00	139,26
KMB	24	7,08	6,9	6,45	7,86	115,2
MKB	48	7,02	6,2	8,03	9,14	128,32
KMB	72	6,99	5,98	9,28	11,82	165,70
KMB	96	6,28	5,86	9,96	13,6	147,72
KMBS	0	10,24	20,15	1,97	2,22	334,61
KMBS	24	7,67	16,48	3,92	12,87	126,68
KMBS	48	7,56	15,24	5,26	16,04	291,01
KMBS	72	7,52	14,8	6,94	18,34	289,11
KMBS	96	6,64	12,85	7,28	18,48	290,26

U všech vzorků vodního kefiru (TB, TBS) lze pozorovat pokles hodnot reálného extraktu. U vzorku vodního kefiru TB byla nejvyšší hodnota stanovena na 10,53 % w/w, u vzorku TBS byla tato hodnota určena na 19,52 % w/w.

U vzorků kombuchy (KMB, KMBS) nebyly hodnoty v porovnání se vzorky vodního kefiru tak vysoké a ani mezi sebou nevykazovaly tak velké rozdíly. U vzorku KMB byla nejvyšší hodnota reálného extraktu určena na 8,02 % w/w a u vzorku KMBS tato hodnota činila 10,24 % w/w.

Snižováním reálného extraktu ve fermentovaných nápojích docházelo k nárůstu hodnot reálného stupně fermentace (Rdf; % w/w). U vzorků vodního kefiru lze pozorovat významné změny již po 24 hodinách od počátku fermentace. Vliv na růstu reálného extraktu (Rdf; % w/w) mělo právě zvyšování ethanolu ve fermentu a zároveň jeho klesající hustota. U vzorků nápoje kombucha (KMB, KMBS) docházelo taktéž k nárůstu hodnot reálného stupně fermentace, ale velmi pozvolna, jelikož u těchto vzorků ani po 5 dnech fermentace nebyl ve větší míře přítomen ethanol, to znamená, že nedošlo u těchto vzorků k tak velkému zkvašení přítomných sacharidů (Wolfová, 2014).

Při výrobě fermentovaných nápojů byly parametry jako reálný stupeň fermentace (Rdf; % w/w) a reálný extrakt (Er; % w/w) vždy sledovány.

Dalším údajem, který byl vygenerován pomocí přístroje Alcoalyzer Anton Paar, bylo určení energetické hodnoty v průběhu fermentace.

U vzorků, kde byla přidána sacharosa (TBS, KMBS), byla energetická hodnota téměř dvojnásobná oproti vzorkům v nativním stavu (TB, KMB). Ethanol, který vzniká v průběhu fermentace při zkvašování sacharidů přítomnými mikroorganismy, taktéž zvyšuje celkovou energetickou hodnotu.

Když se podíváme na konkrétní hodnoty, u vzorku vodního kefiru TB byla naměřena nejvyšší hodnota 188,52 (kJ/100ml), naopak u TBS byla nejvyšší hodnota 329,25 (kJ/100ml). U kombuchy vzorek KMB měl nejvyšší energetickou hodnotu 165,70 (kJ/100ml) a u vzorku KMBS byla naopak nejvyšší hodnota 334,61 (kJ/100ml).

## 7.2 Výsledky reologické analýzy

Během reologické analýzy byly měřeny a zkoumány především hodnoty zdánlivé viskozity a smykového napětí, a to z toho důvodu, že viskozita nám pomůže určit rozdělení kapaliny dle fyzikálních vlastností, jelikož sama viskozita definuje vztah vnitřního tření tekutiny (Řezníček, 2014). Kapaliny se podle fyzikálních vlastností, které jsou závislé na viskozitě, dělí na dilatantní, newtonské a pseudoplastické. Mezi těmito kapalinami platí Newtonův zákon viskozity, kde je přímá úměra mezi rychlostí deformace a napětím (Kopečková, 2021).

### 7.2.1 Výsledky reologické analýzy u vzorků vodního kefiru

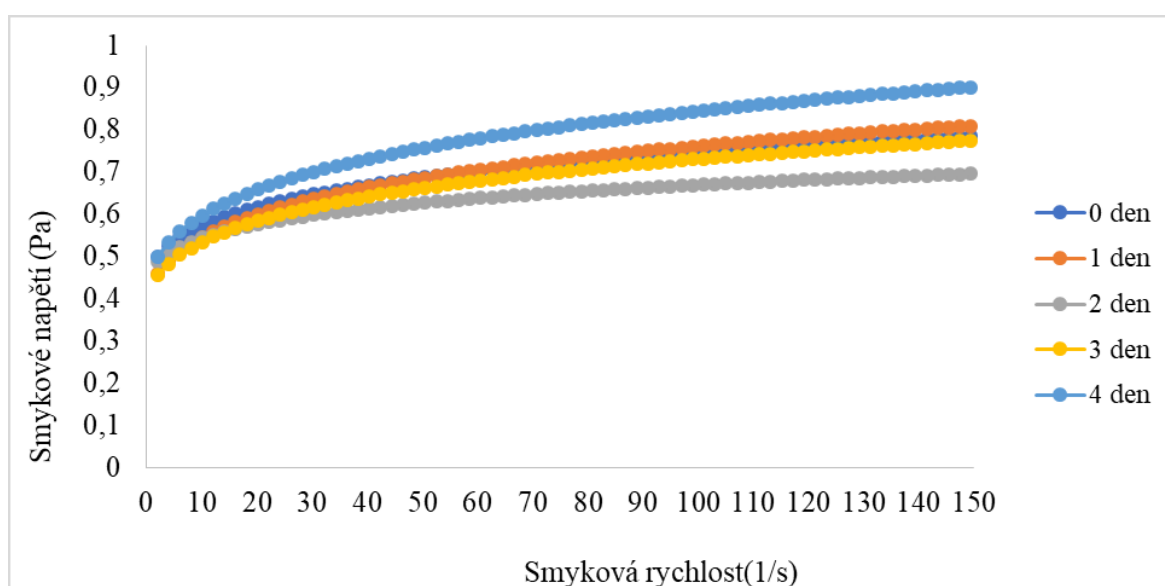
V následujících grafech a tabulkách jsou znázorněny jednotlivé výsledky. Nápoje vodního kefiru jsou všeobecně řazeny mezi látky ne-newtonské, tudíž mohou být buď pseudoplastické, nebo dilatantní.

**Tabulka 2.** Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorků vodního kefiru.

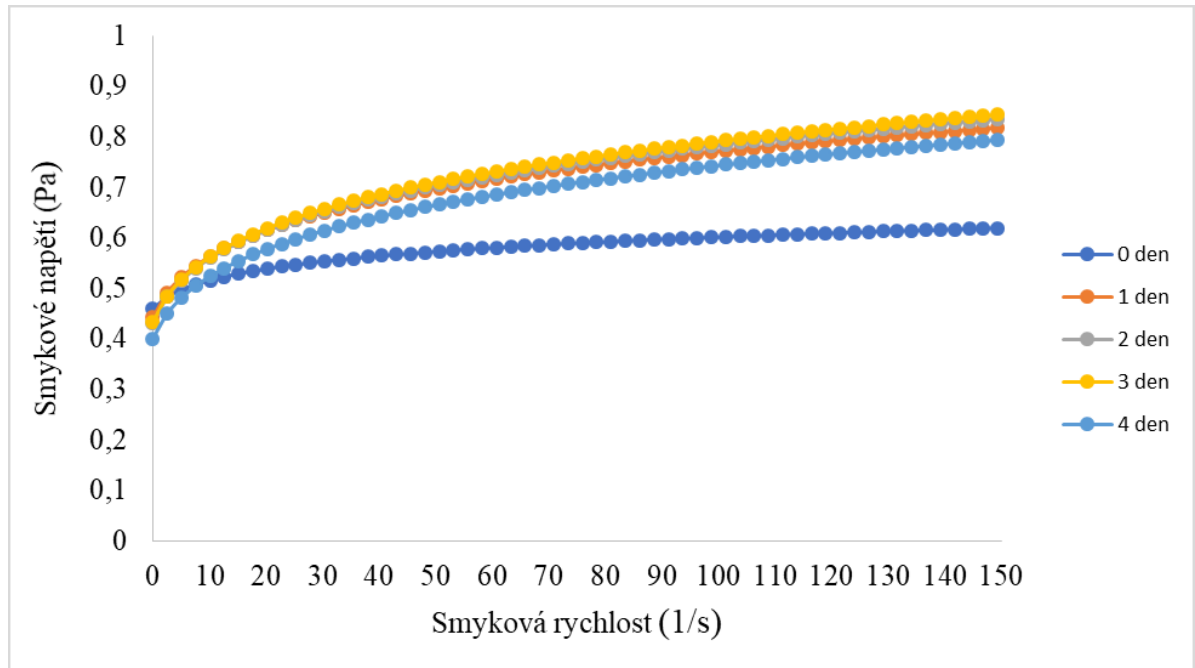
Vzorek	K (Pa s)	n (-)	R <sup>2</sup>
TB_1	0,407	0,125	0,9377
TB_2	0,357	0,156	0,9559
TB_3	0,416	0,098	0,7812

TB_4	0,358	0,147	0,8798
TB_5	0,383	0,163	0,7721
TBS_1	0,401	0,142	0,8179
TBS_2	0,351	0,187	0,9152
TBS_3	0,365	0,184	0,8698
TBS_4	0,338	0,18	0,927
TBS_5	0,377	0,156	0,8995

Z výše uvedené tabulky je zřejmé, a to díky hodnotě  $n$ , která znázorňuje veličinu „index tokového chování“ a značí se „ $n$ “, že se u všech vzorků vodního kefíru jedná o kapalinu pseudoplastickou (Řezníček, 2014). Tato hodnota je buď menší, nebo větší než jedna, pokud je větší než jedna, jedná se z pohledu viskozity kapaliny o kapalinu dilatantní, pokud se hodnoty pohybují pod hodnotou jedna, jedná se o kapalinu pseudoplastickou, to znamená, že viskozita klesá s rychlostí deformace (Prokop, 2017).



**Obrázek 14.** Vývoj zdánlivé viskozity během fermentace vodního kefiru bez přídavku sacharosy.



**Obrázek 15.** Vývoj zdánlivé viskozity během fermentace vodního kefiru s přídavkem sacharosy.

Na uvedených grafech (Obr. 12, 13) lze pozorovat průběh změny veličin zdánlivé viskozity a smykového napětí během fermentace nápoje vodního kefiru v grepové 100% šťávě. U obou vzorků (TB, TBS) kapaliny vykazovaly pseudoplastické chování. V porovnání s podobnou studií (Kopečková, 2021) vykazovaly vzorky vodního kefiru a kombuchy ze zelné šťávy, jablečné šťávy a černého čaje také pseudoplastické chování.

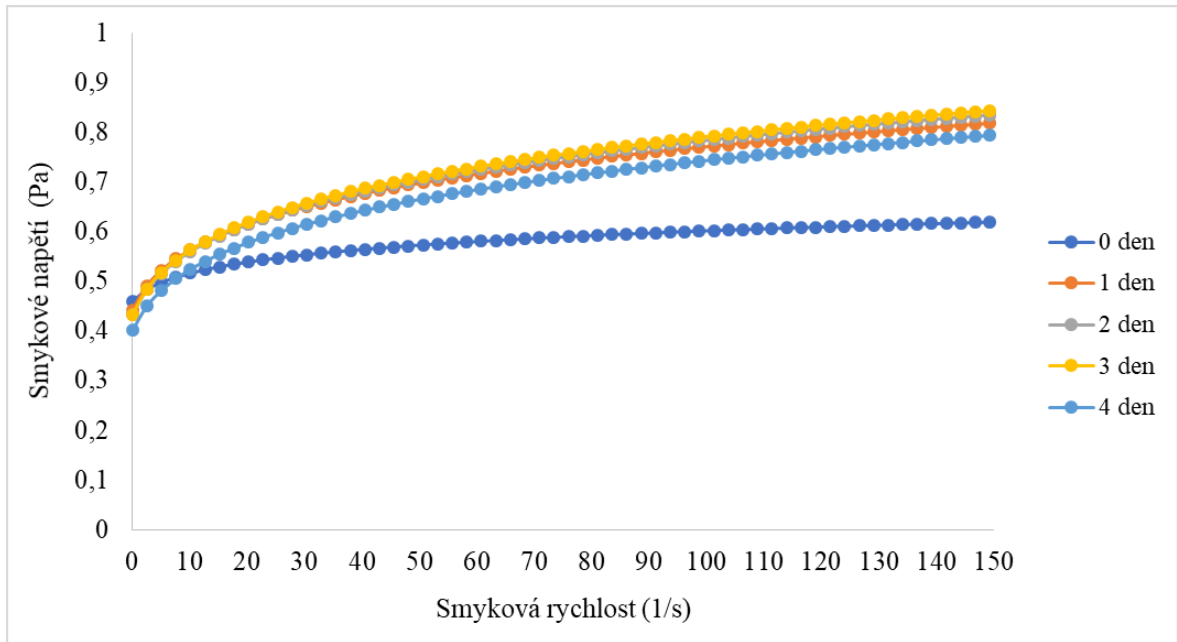
### 7.2.2 Výsledky reologické analýzy u vzorků kombuchy

V následujících grafech (Obr 14 a 15) a tabulkách (Tab. 3) jsou znázorněny jednotlivé výsledky nápoje kombuchy, které jsou všeobecně řazeny mezi látky ne-newtonské, tudíž mohou být buď pseudoplastické, nebo dilatantní.

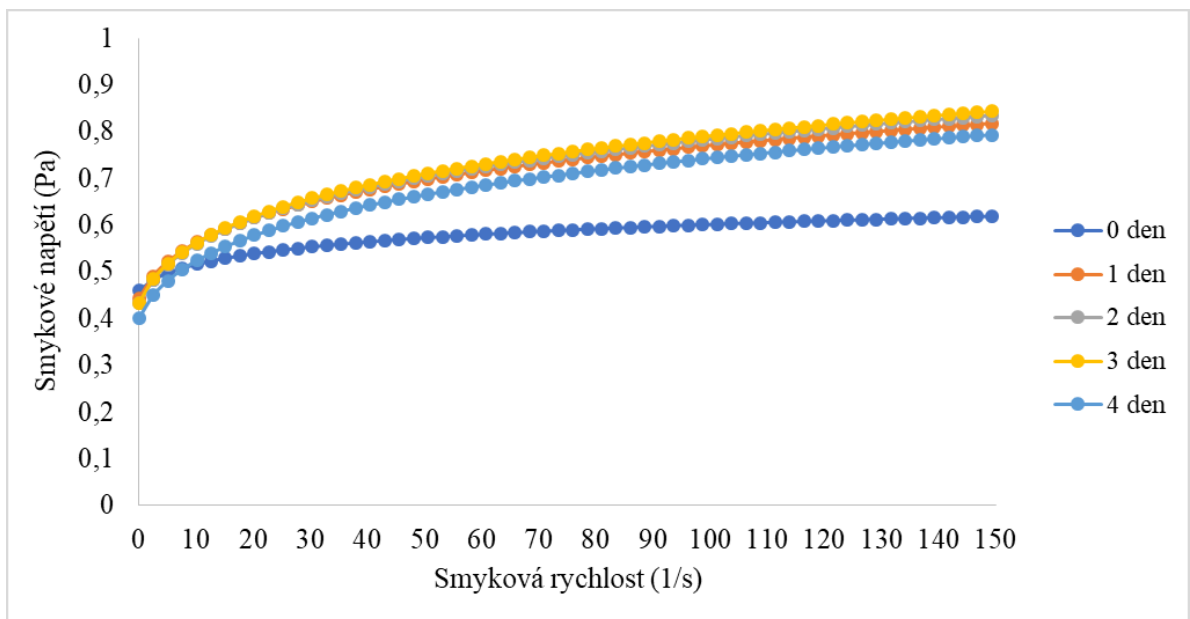
**Tabulka 3.** Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorků vodního kefiru.

Vzorek	K (Pa · s)*	n (-)*	R <sup>2</sup>
KMB_1	0,346	0,119	0,9717
KMB_2	0,391	0,103	0,9372
KMB_3	0,385	0,133	0,9556
KMB_4	0,366	0,154	0,9711
KMB_5	0,383	0,128	0,9612
KMBS_1	0,429	0,073	0,9558
KMBS_2	0,385	0,151	0,9579
KMBS_3	0,372	0,161	0,9433
KMBS_4	0,353	0,163	0,9612
KMBS_5	0,343	0,167	0,9349

Z výše uvedené tabulky (Tab. 3) je zřejmé, a to díky hodnotě n, která znázorňuje veličinu „index tokového chování“ a značí se „n“, že se u všech vzorků kombuchy jedná o kapalinu pseudoplastickou. Tato hodnota (n) je buď menší, nebo větší než jedna, a v případě, že je větší než jedna, jedná se z pohledu viskozity kapaliny o kapalinu dilatantní, pokud se hodnoty pohybují pod hodnotou jedna, jedná se o kapalinu pseudoplastickou (Prokop, 2017). Stanovené hodnoty „n“ u kombuchy se pohybovaly v rozmezí od 0,12 do 0,167.



**Obrázek 16.** Vývoj zdánlivé viskozity během fermentace kombuchy bez přídavku sacharosu.



**Obrázek 17.** Vývoj zdánlivé viskozity během fermentace kombuchy s přídavkem sacharosu.

Na uvedených grafech (Obr. 14 a 15) lze pozorovat průběh změny veličin zdánlivé viskozity a smykového napětí během fermentace nápoje kombucha v grepové 100% šťávě. U obou

vzorků (KMB, KMBS) kapaliny vykazovaly pseudoplastické chování, to znamená, že s rostoucím gradientem rychlosti docházelo k řidnutí kapaliny (Prokop, 2017).

### 7.3 Výsledky stanovení biogenních aminů

Stanovení BA potravinářství se běžně provádí z bezpečnostních důvodů. Histamin, tyramin, putrescin a kadaverin jsou hlavní biogenními aminy, které se obvykle stanovují v kvašených nápojích jako je víno a pivo.

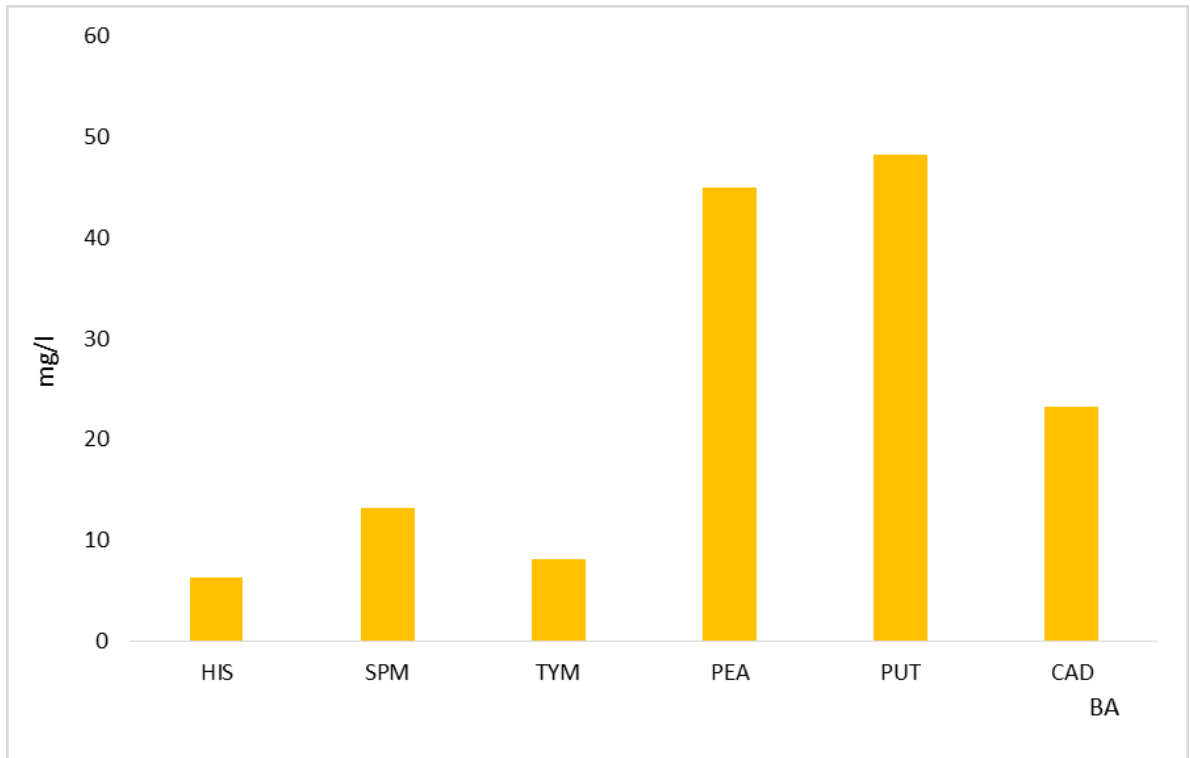
Z odebraných vzorků vodního kefiru a kombuchy bylo sledováno a stanoveno 6 BA, mezi nimiž byl tyramin (TYM), Spermin (SPM), Tryptamin (TRY), fenyletylamin (PEA), Putrescin (PUT), Kadaverin (CAD). Přítomnost BA v nápojích může mít neblahý vliv na lidský organismus, a to z vícero důvodů. BA se dělí v začátku na psychoaktivní a vazoaktivní (Janoušková 2010). Psychoaktivní biogenní aminy mají funkci neurotransmiterů v centrální nervové soustavě a biogenní aminy vazoaktivního charakteru působí především neblaze na krevní tlak skrze vliv na cévní systém. Při nadměrném příjmu BA z potravin a nápojů se snižuje detoxikační schopnost enzymového systému. Fermentované nápoje jsou většinou významným zdrojem BA, ty ale nejsou obsaženy ve výchozích surovinách, ale vznikají právě fermentačním procesem (Janoušková 2010).

BA jsou skupinou nízkomolekulárních sloučenin dusíku odvozených od aminokyselin a vznikají v potravinách především působením dekarboxyláz, ale také transaminací či aminací aldehydů a ketonů. Kromě toho jsou BA nepostradatelnými sloučeninami během některých fyziologických procesů a organismy si mohou BA samy syntetizovat (Lorencová et al., 2021).

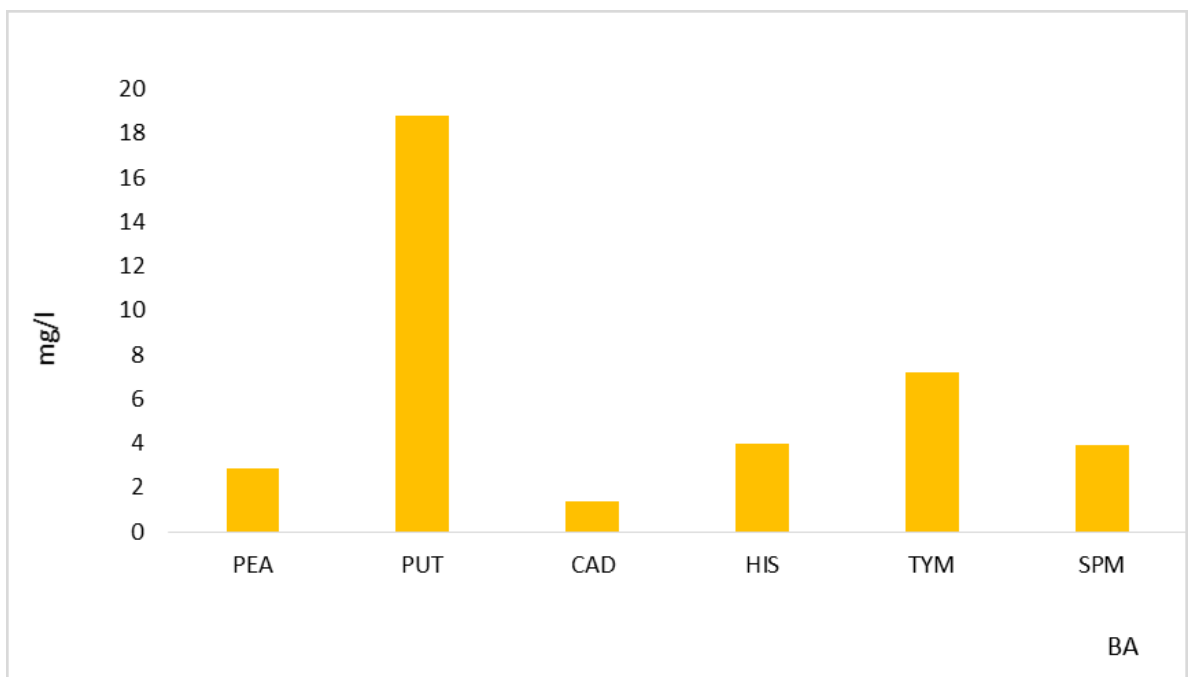


### 7.3.1 Výsledky stanovení BA u vzorků vodního kefiru

V následujících grafech je znázorněno dané množství BA v každém vzorku vodního kefiru



**Obrázek 18.** Výskyt biogenních aminů u vzorku nativního vodního kefiru.



**Obrázek 19.** Výskyt biogenních aminů u vzorku vodního kefiru s přidavkem sacharosy

Biogenní aminy vznikají z aminokyselin působením dekarboxyláz nebo z aminokyselin a karbonylových sloučenin působením transaminas (Buňková et al., 2011).

Při jejich přeměně na další biologicky aktivní látky se uplatňují některé oxygenasy a methyltransferasy (Hudcová, 2012).

Z důvodu bohatého zastoupení mikroorganismů ve fermentovaných nápojích (vodní kefir a kombucha) jsou tyto nápoje živnou půdou pro dekarboxylaci aminokyselin a vznik BA.

Bakterie způsobující dekarboxylaci aminokyselin patří do mnoha rodů, zejména *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* a *Shigella*, dekarboxylázy aminokyseliny se vyskytují i v mléčných bakteriích rodu *Lactobacillus*, *Pediococcus* a *Streptococcus* (Janoušková 2010).

Odstranit alespoň část vytvořených BA z potravin je komplikované, rozhodující je však omezit jejich vznik. Toho lze dosáhnout dodržováním zásad správné výrobní praxe, směřujících k potlačení nežádoucích skupin bakterií (Hudcová 2012).

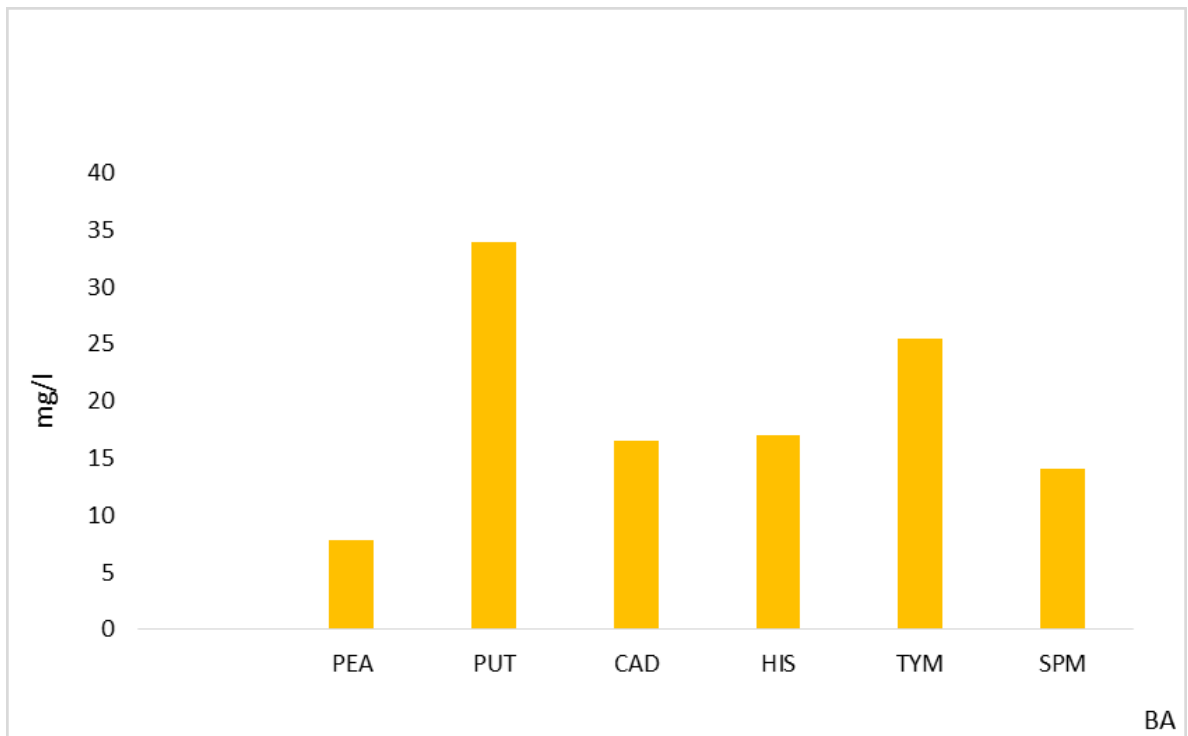
Stanovení BA bylo ve 2 vzorcích vodního kefiru (TB, TBS). V každém vzorku byla určena přítomnost biogenních aminů v mg/l. Když srovnáme vzorky vodního kefiru, tak u vzorku TB převládá přítomnost PUT a PEA, u vzorku TBS převládá PUT, ale je detekován na poloviční hodnotě než u TB. Jelikož obecný předpoklad je, že hodnoty BA v potravinách jsou bezpečné do hodnot 100 mg/l (Lorencová et al., 2021), lze tedy předpokládat, že vzorky zkoumaného vodního kefiru jsou pro spotřebitele z hlediska obsahu biogenních aminů bezpečné. V porovnání s podobnou studií, ale rozdílným fermentovaným nápojem, kterým byl v tomto případě cider o obsahu alkoholu v rozmezí 3,1- 4,5 % w/w, byly výsledky obsahu putrescinu v rozmezí 0,3 – 41 mg/l. Kadaverin byl detekován jako druhý nejvíce zastoupený BA a jeho koncentrace se pohybovala v rozmezí 0,3 – 22,8 mg/l (Borek, 2020). V porovnání s vodním kefirem taktéž převládal PUT, ale jako druhý byl nejvíce zastoupený TYM.

Pro příklad je zde uvedena ještě jedna studie (Jonáková, 2019), ve které se pojednávalo o stanovení BA ve vzorcích vína. BA ve víně se celkově vyskytují v daleko menším množství a většinou jsou hodnoty vyšší u červených vín než u bílých. Tato studie došla ale k jiným výsledkům, bílá vína měla podobné hodnoty jako vína červená, jeden vzorek dokonce vyšší. Co se týče celkových hodnot BA, jsou dále uvedeny příklady k porovnání s vodním kefirem (Jonáková, 2019).

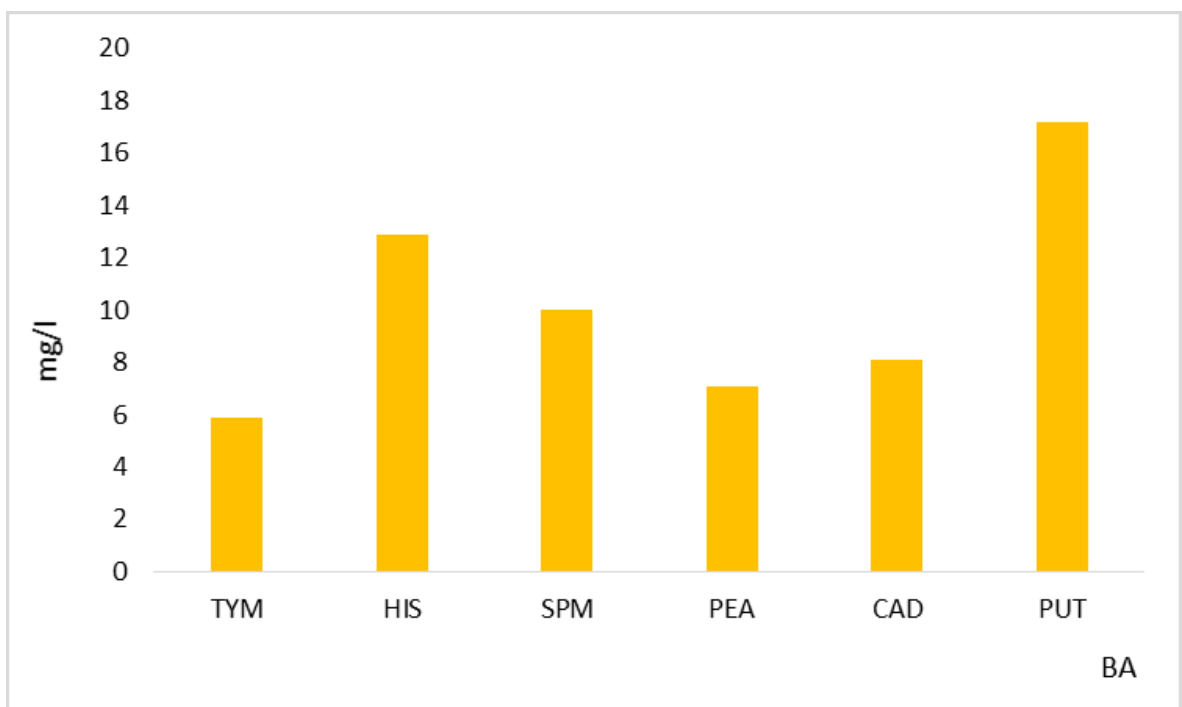
V analyzovaném červeném vínu Dornfelder byl stanoven putrescin, jehož obsah byl stanoven na hodnotu  $86,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  a tyramin s obsahem  $65,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Naopak u stáčeného vína Frankovka byly přítomny biogenní aminy fenylethylamin, putrescin, kadaverin a histamin, jejichž obsahy ale byly pod mezí stanovitelnosti. V lahvové Frankovce byl stanoven tyramin s obsahem  $223,6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  a další BA pod mezí stanovitelnosti (Jonáková, 2019). V porovnání se vzorky vodního kefiru byly tyto hodnoty u vína zanedbatelné.

### 7.3.2 Stanovení biogenních aminů u vzorků kombuchy

V následujících grafech je znázorněno dané množství BA v každém vzorku nápoje kombucha:



Obrázek 20. Výskyt biogenních aminů u vzorku nativní kombuchy.



**Obrázek 21.** Výskyt biogenních aminů u vzorku kombuchy s přidavkem sacharosy.

U vzorků kombuchy bez přidavku sacharosy (KMB) byla určena významná přítomnost PUT, u vzorků s přidavkem sacharosy (KMBS) bylo určeno spíše stopové množství všech výše zmíněných BA. Opět platí, že jelikož jsou celkové hodnoty do 100 mg/l, považují se tyto vzorky nápoje kombucha za bezpečné (Lorencová et al., 2021).

Ve studii (Borek, 2020), kde byl zkoumán cider na přítomnost BA, se u ciderů bez alkoholu, které jsou z hlediska obsahu ethanolu nejvíce podobné nápoji kombucha, jelikož i ona měla po pětidenní fermentaci zanedbatelné množství alkoholu, byla nalezena přítomnost kadaverinu a to ve všech vzorcích. Ten se objevil v koncentrací 0,7 - 0,8 mg/l. Průměrná hodnota putrescinu činila 0,5 mg/l a taktéž se objevil ve všech vzorcích. Tyramin se také vyskytoval ve všech vzorcích (Borek, 2010). U kombuchy byly hodnoty daleko vyšší, a to jak u putrescinu, tak i u ostatních BA. Ze všech 4 grafů je dále patrné, že obsah BA byl nižší u vzorků, u kterých byla přidána sacharosa, a to téměř až o polovinu daných hodnot.

#### 7.4 Výsledky senzorické analýzy

Pomocí senzorické analýzy lze hodnotit vzorky potravin, a to pomocí určitého počtu hodnotitelů, kteří při hodnocení používají všech pět lidských smyslů. V potravinářském průmyslu se provádí za účelem posouzení dané potraviny, je ukazatelem, jak bude daná surovina (potravina) pravděpodobně přijímána v potravinovém průmyslu a v obchodních záležitostech, zda produkt bude či nebude oblíbený. Senzorická analýza pracuje převážně se statistickými metodami. Dá se říct, že základem je subjektivní názor hodnotitelů, díky němuž získáme názor objektivní ohledně použitých vzorků.

Dle normy ISO 8586 1 (1993) byla u zkoumaných vzorků provedena senzorická analýza, a to při počtu 12 hodnotitelů, z nichž bylo 8 žen a 4 mužů muži ve věku mezi 21 až 56 let. Vzorky fermentovaných nápojů byly při hodnocení konzumovány ze vzorkovnic o objemu 50 ml. Vzorky byly anonymní, hodnotitelé znali pouze trojmístný číselný kód. Celkově byly hodnoceny čtyři vzorky, které byly podávány v náhodném pořadí, aby se předešlo případnému ovlivnění hodnotitelů. Celý proces hodnocení probíhal v kójiích pro senzorickou analýzu za přísných hygienických i senzorických podmínek dle předpisu ISO 8586:2007. Vzorky byly hodnoceny pomocí pětibodové stupnice a níže zmíněných kritérií:

- celková chuť fermentovaného nápoje (typická, hořká, trpká, prázdná, trávová, cizí, příjemná),
- vůně nápoje (typická, aromatická, ovocná, svěží, nasládlá, prázdná, cizí, příjemná),
- barva nápoje (nevýrazná, typická, lahodící, odpudivá),
- perlivost fermentovaného nápoje (téměř bez perlivosti, jemně perlivá, středně perlivá, výrazně perlivá).

Stupnice hodnocení byla určena od 1 do 5 jako

1. nevyhovující
2. podprůměrná
3. dobrá
4. příjemná
5. velmi příjemná

### **Hodnocení barvy fermentovaných nápojů**

Intenzita fermentovaného nápoje byla hodnocena pomocí bodové stupnice od jedné (nejmenší intenzita) do 5 (největší intenzita). Bylo hodnoceno celkově 5 deskriptorů barvy (nevýrazná, typická, lahodící, odpudivá, příjemná).

### **Hodnocení vůně fermentovaných nápojů**

Pro hodnocení čichového vjemu fermentovaných nápojů kombuchy a vodního kefiru a celkovou příjemnost vůně byla použita bodová stupnice od jedné do pěti, kde pět bodů znamenalo maximální intenzitu vůně. Bylo hodnoceno celkem 7 deskriptorů vůně (typická, aromatická, svěží, prázdná, cizí, příjemná, nepříjemná).

### **Hodnocení chuti fermentovaných nápojů**

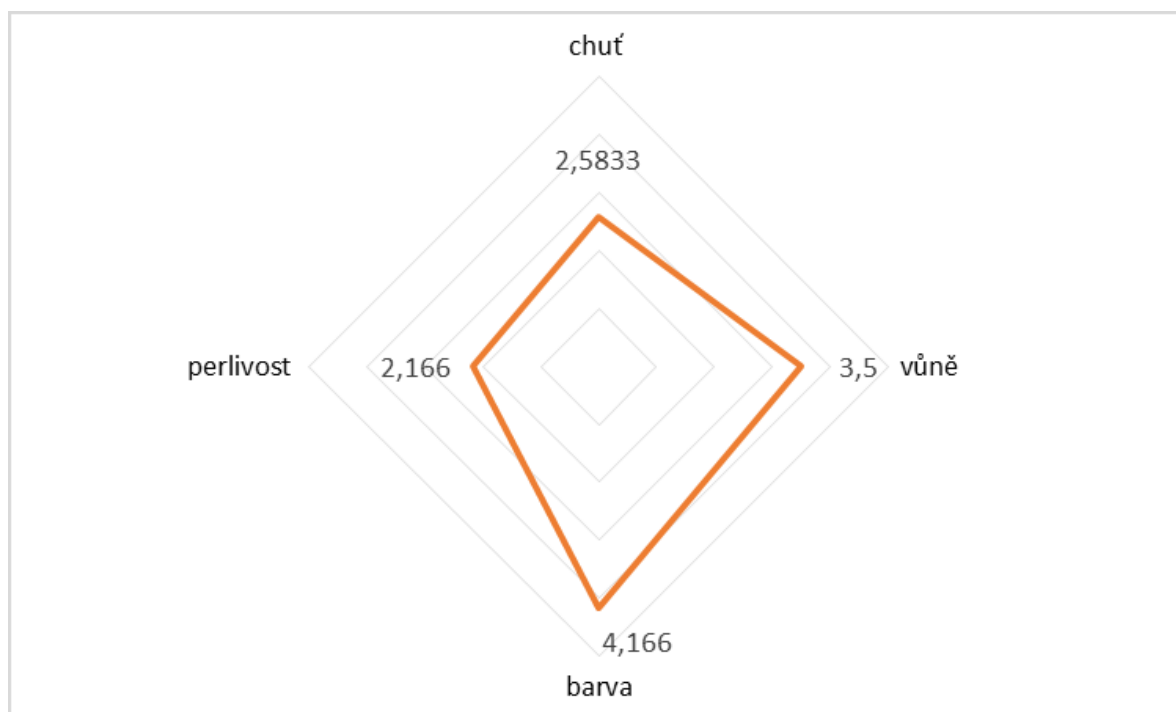
Pro hodnocení chuti fermentovaných nápojů byla použita bodová stupnice od jednoho bodu, kde jeden bod znamená nulovou intenzitu, až po pět bodů, které znamenaly nejlepší chuť. Chuť byla hodnocena pomocí sedmi deskriptorů (typická, hořká, trpká, prázdná, trávová, cizí, příjemná).

### Perlivost nápoje

Pro hodnocení perlivosti fermentovaných nápojů byla použita bodová stupnice od jednoho bodu, kde jeden bod znamená nulovou intenzitu, až po pět bodů, které znamenaly nejlepší chuť. Chuť byla hodnocena pomocí čtyřech deskriptorů (téměř bez perlivosti, jemně perlivá, středně perlivá, výrazně perlivá).

#### 7.4.1 Senzorické hodnocení u vzorku TB

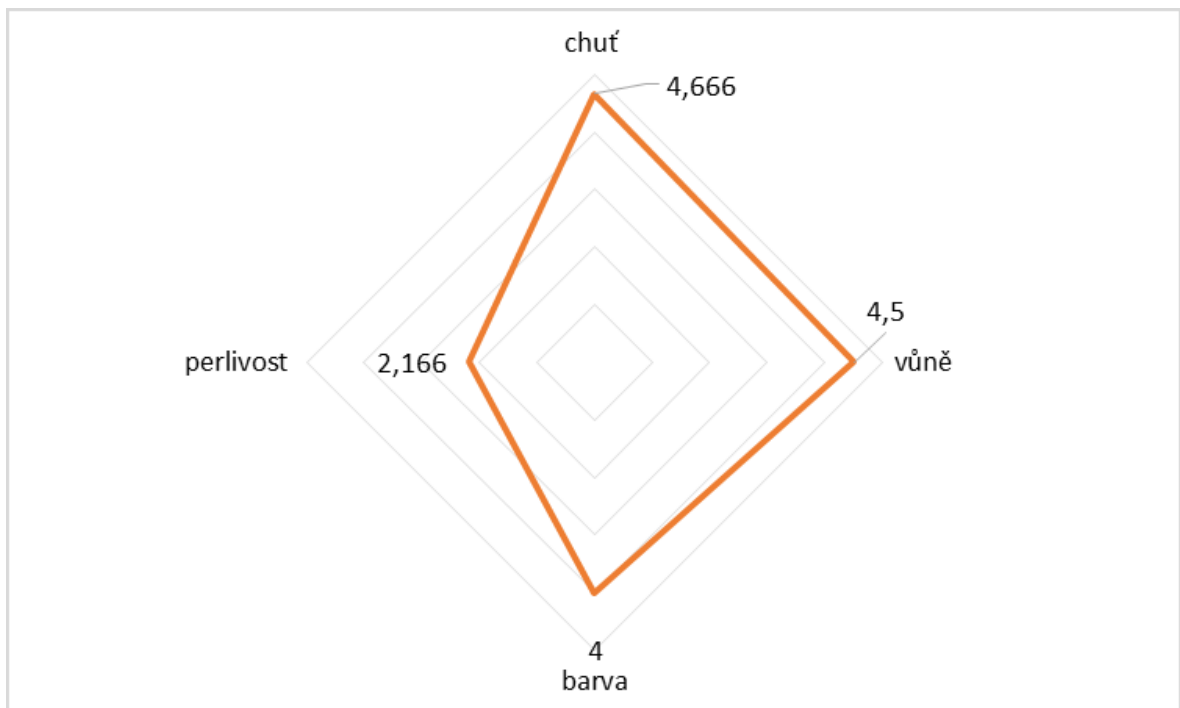
Na níže uvedeném grafu (Obr. 19) je znázorněn výsledek sensorické analýzy u vzorku TB, který byl nativní, bez přídavku sacharosy. Při hodnocení chuti vodních kefirových vzorků (TB, TBS) byl výrazně lépe hodnocen vzorek TBS (s přidanou sacharosou), kde 9 hodnotitelů na stupnici označili číslo pět, které mělo slovní význam 5 - velmi příjemná. Perlivost byla celkově hodnocena jako jemně perlivá, vůně byla průměrná, příjemná bez cizích pachů a příměsí.



**Obrázek 22.** Sensorická analýza u vzorku nativního vodního kefiru.

#### 7.4.2 Vyhodnocení senzoričké analýzy u vzorku TBS

Vzorek TBS (Obr. 20) byl hodnocen nejkladněji v rámci testovaných fermentovaných nápojů. Měl nejvýraznější perlivost a podle hodnotitelů i nejpřijatelnější barvu a nejlepší chuť, která byla hodnocena průměrnou známkou 4,6, což značí, že byl nápoj chuťově výborný. V porovnání se vzorkem TB byl vzorek TBS hodnocen ve všech ohledech lépe, což zřejmě zapříčinilo přidavek sacharosu.

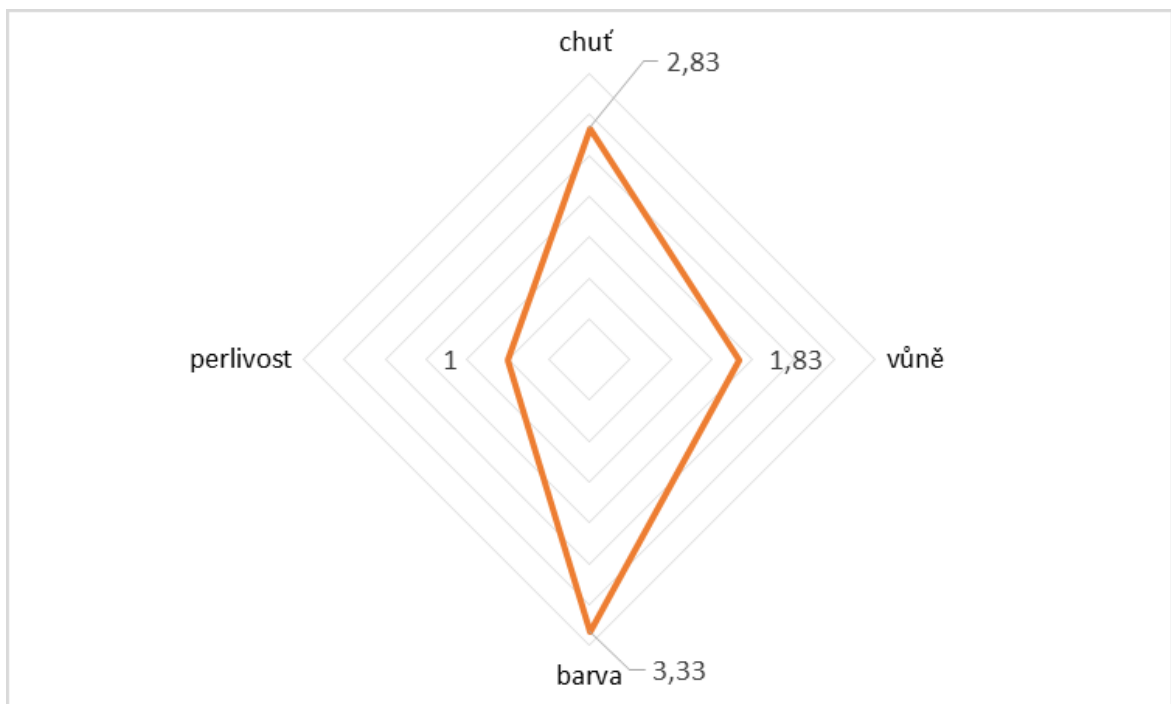


**Obrázek 23.** Senzorická analýza u vzorku vodního kefiru s přidavkem sacharosu.



### 7.4.3 Vyhodnocení sensorické analýzy u vzorku KMB

Vzorek nápoje kombuchy KMB (Obr. 24) byl celkově, v porovnání s ostatními vzorky, hodnocený pod průměrem. Co se týče chutě, byl hodnocen jako lehce nadprůměrný, perlivost nebyla u nápoje podle hodnotitelů přítomna a vůně působila lehce ovocně až octově, ne zcela příjemně pro všechny hodnotící.



**Obrázek 24.** Sensorická analýza u vzorku nativní kombuchy.

#### 7.4.4 Vyhodnocení sensorické analýzy u vzorku KMBS

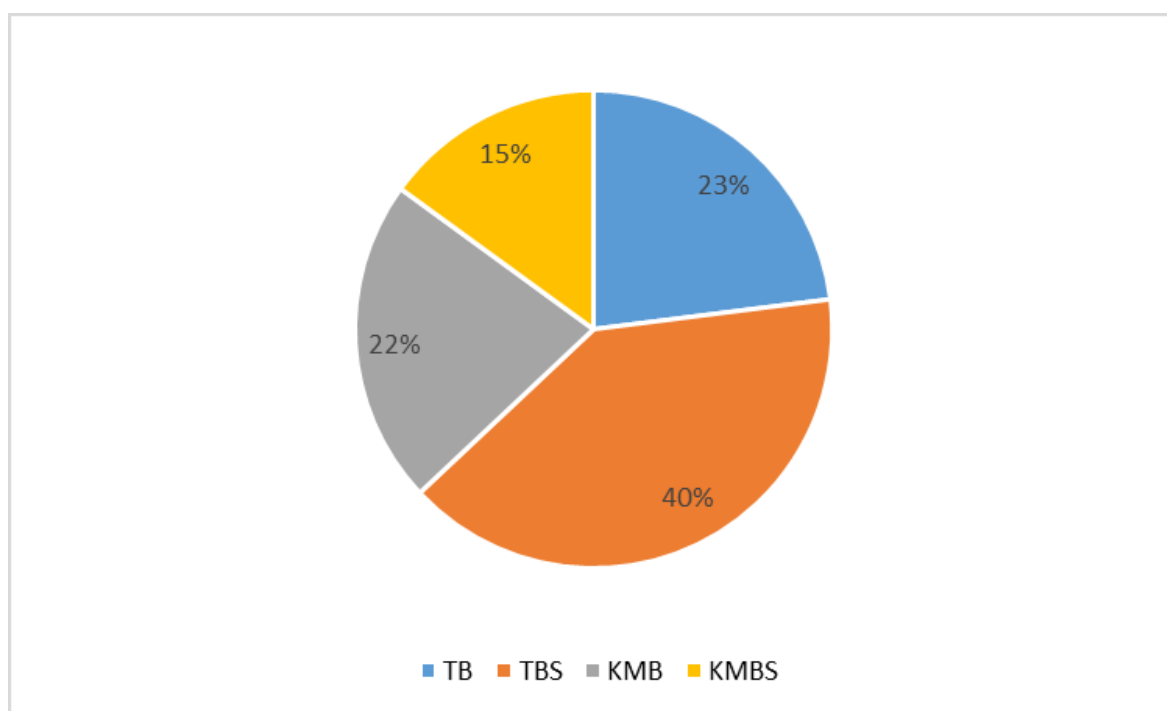
Vzorek nápoje kombucha KMBS (Obr. 25) byl hodnocen dle hodnotitelů mírně hůře, než vzorek kombuchy KMB. Perlivost byla hodnocena hodnotou 1, což znamená, že zde nebyla smysly detekována, nejlépe hodnoceným prvkem u tohoto vzorku byla barva s průměrnou hodnotou 2,91.



**Obrázek 25.** Sensorická analýza u vzorku kombuchy s přidavkem sacharosy.

#### 7.4.5 Pořadový preferenční test

U pořadového preferenčního testu je cílem sečtení jednotlivých výsledků (odpovědí hodnotitelů) a seřazení testovaných vzorků dle klesající preference. Pořadovou zkoušku lze vyhodnotit různými statistickými metodami. Zkouška je znázorněna na následujícím grafu, ze kterého lze vyčíst celkové hodnocení použitých fermentovaných nápojů.



**Obrázek 26.** Znázornění preferenčního testu u všech vzorků vyrobených fermentovaných nápojů.

Dle grafického znázornění (Obr. 26) je patrné, že celkové nejlepší preferenční hodnocení bylo u vzorku TBS, což byl vzorek vodního kefiru, ke kterému byla před začátkem fermentace přidána sacharosa. Naopak nejhůře hodnoceným vzorkem se stal vzorek KMBS, což byl nápoj fermentovaný pomocí kombuchy taktéž s přidavkem sacharosy. V podobné studii (Neffe-Skocinska et al., 2017) byla provedena senzorická analýza kombuchy, které byla hodnocena senzoricky velmi kladně, ale neproběhlo zde porovnání s vodním kefirem. Dle této studie je pro kladné senzorické hodnocení potřeba, aby SCOBY bylo fermentováno

ideálně deset dní při teplotě 25°C, což umožňuje získat sensoricky stabilní produkt fermentovaného nápoje kombucha.

## ZÁVĚR

Tato práce se zabývala nápoji, které byly fermentovány symbiotickými kulturami, konkrétně fermentace pomocí SCOBY za vzniku nápoje kombucha a vodních keřirových zrn (Tibi krystalů) za vzniku vodního keřiru. Teoretická část pojednává o symbiotických kulturách, je uvedena jejich celková charakteristika, specifikován mikrobiologický profil a působení symbiotických kultur na zdraví konzumenta. V neposlední řadě teoretická část pojednává o trendech a výzkumech v oblasti aplikace vodních keřirových zrn a SCOBY.

V praktické části práce byly vyrobeny modelové vzorky vodního keřiru a kombuchy, jejichž vlastnosti byly analyzovány pomocí vybraných metod měření.

Na základě výsledků praktické části lze uvést, že:

- Nedošlo k významným změnám pH v průběhu fermentace vodního keřiru a kombuchy.
- Refraktometrická sušina klesala v čase fermentace, což jasně dokazovalo aktivitu mikroorganismů, které přeměňovaly sacharosu na oxid uhličitý a ethanol. Refraktometrická sušina klesala výrazněji u vodního keřiru, u kombuchy byly výsledky po pěti dnech fermentace zanedbatelné.
- Hodnoty měrné elektrické vodivosti jak u vodního keřiru, tak i u kombuchy nevykazovaly žádné významné změny.
- Obsah ethanolu u všech zkoumaných vzorků rostl. U vodního keřiru byl rozdíl významný, u nápoje kombucha byla finální koncentrace ethanolu nižší než u vodního keřiru.
- V rámci stanovení biogenních aminů bylo detekováno šest BA (tyramin (TYM), spermin (SPM), Histamin (HIS), Fenyl-ethylamin (PEA), Putrescin (PUT), Kadaverin (CAD)). Nejvyšší koncentraci ve vzorcích vodního keřiru a kombuchy vykazoval putrescin, ostatní BA byly stanoveny v nevýznamném množství. V rámci celkového výskytu BA (suma BA) nepřesáhly hodnotu 100 mg/l, která je považována za bezpečnou pro spotřebitele.
- Při sensorické analýze byly hodnoceny nápoje zvlášť a následně i při celkovém preferenčním testu. Nejlépe hodnoceným byl nápoj vodního keřiru s počátečním přídatkem sacharosy.

Tato diplomová práce vedla k výrobě prototypových vzorků nových druhů nápojů. Doplnuje odbornou literaturu, jelikož zatím nebyly z dostupných zdrojů prozkoumány vzorky vodního keříru a kombuchy v grepovém fermentačním mediu.

Oblast fermentovaných nápojů, které jsou vyráběny pomocí SCOBY a zrn vodního keříru, není ještě dostatečně probádána. V netradičních fermentovaných nápojích je ukryt velký výzkumný potenciál.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

AFIATI, F, F SETIYONINGRUM, G PRIADI a C H HANDOYO. Characteristics of Solo Black Garlic Fermented in Kombucha Black Tea. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* [online]. 2020, **439**(1) [cit. 2022-02-24]. ISSN 1755-1307. Dostupné z: doi:10.1088/1755-1315/439/1/012053

ALVES, Vanessa, Thamarys SCAPINI, Aline Frumi CAMARGO, et al. Development of fermented beverage with water kefir in water-soluble coconut extract (*Cocos nucifera* L.) with inulin addition. *LWT* [online]. 2021, **145** [cit. 2022-03-02]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2021.111364

ARIKAN, Muzaffer, Alex L. MITCHELL, Robert D. FINN a Filiz GÜREL. Microbial composition of Kombucha determined using amplicon sequencing and shotgun metagenomics. *Journal of Food Science* [online]. 2020, **85**(2), 455-464 [cit. 2022-02-24]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.14992

ARIKAN, Muzaffer, Alex L. MITCHELL, Robert D. FINN a Filiz GÜREL. Microbial composition of Kombucha determined using amplicon sequencing and shotgun metagenomics. *Journal of Food Science* [online]. 2020, **85**(2), 455-464 [cit. 2022-03-28]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.14992

BHATTACHARYA, Semantee, Prasenjit MANNA, Ratan GACHHUI a Parames C. SIL. D-Saccharic acid 1,4-lactone protects diabetic rat kidney by ameliorating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via NF- $\kappa$ B and PKC signaling. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. 2013, **267**(1), 16-29 [cit. 2022-04-24]. ISSN 0041008X. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2012.12.005

BOREK, Šimon. Výskyt biogenních aminů v ciderech. Zlín, 2020. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

BUENO, Raíssa S., Jéssica B. RESSUTTE, Natália N.Y. HATA, Fernanda C. HENRIQUE-BANA, Karla B. GUERGOLETTTO, Admilton G. DE OLIVEIRA a Wilma A. SPINOSA. Quality and shelf life assessment of a new beverage produced from water kefir grains and red pitaya. *LWT* [online]. 2021, **140** [cit. 2022-04-05]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2020.110770

BUŇKOVÁ, Leona. MONITORING VÝSKYTU BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH V ČR. Mlékárenské listy [online]. 2011, 2011(134), 1-2 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: [http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2012/134\\_s.i-iii.pdf](http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2012/134_s.i-iii.pdf)

COELHO, Raquel Macedo Dantas, Aryelle Leite de ALMEIDA, Rafael Queiroz Gurgel do AMARAL, Robson Nascimento da MOTA, Paulo Henrique M. de SOUSA, Hüseyin ERTEN, Giancarlo MOSCHETTI a Luca SETTANNI. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 2020, **22**, 40-51 [cit. 2022-03-07]. ISSN 1878450X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgfs.2020.100272

COMA, M. Eugenia, Mercedes A. PELTZER, Juan F. DELGADO a Andrés G. SALVAY. Water kefir grains as an innovative source of materials: Study of plasticiser content on film properties. *European Polymer Journal* [online]. 2019, **120** [cit. 2022-03-01]. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2019.109234

CORONA, Onofrio, Walter RANDAZZO, Alessandro MICELI, Rosa GUARCELLO, Nicola FRANCESCA, Hüseyin ERTEN, Giancarlo MOSCHETTI a Luca SETTANNI. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices: Review. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2016, **66**(3), 572-581 [cit. 2022-03-07]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2015.11.014

DLABAČ, Martin. *Využití reologických modelů v potravinářství*. Zlín, 2018. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

EMILJANOWICZ, Katarzyna Ewa a Edyta MALINOWSKA-PAŃCZYK. Kombucha from alternative raw materials – The review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2020, **60**(19), 3185-3194 [cit. 2022-03-01]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2019.1679714

FELS, Lea, Frank JAKOB, Rudi F. VOGEL, Daniel WEFERS, Shalini JAIN a Hariom YADAV. Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir: a review. *Carbohydrate Polymers* [online]. New York, NY: Springer New York, 2018, 2009, **189**(1), 296-303 [cit. 2022-03-07]. ISBN 978-0-387-79057-2. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2018.02.037

FRYČ, Pavel a Pavel KOHOUT. *Potraviny - součást zdravého životního stylu*. Olomouc: Solen, 2010. ISBN 978-80-87327-39-5.



GILL, Harsharn S., Sunita GROVER, Virender K. BATISH, Preet GILL, Shalini JAIN a Hariom YADAV. Immunological Effects of Probiotics and their Significance to Human Health: a review. *Prebiotics and Probiotics Science and Technology* [online]. New York, NY: Springer New York, 2009, 2009, **334**(1), 901-948 [cit. 2022-03-07]. ISBN 978-0-387-79057-2. ISSN 03781097. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-387-79058-9\_23

GÖKIRMAKLI, Çağlar a Zeynep B. GÜZEL-SEYDIM. Water kefir grains vs. milk kefir grains: Physical, microbial and chemical comparison. *Journal of Applied Microbiology* [online]. [cit. 2022-04-04]. ISSN 1364-5072. Dostupné z: doi:10.1111/jam.15532

GULITZ, Anna, Jasmin STADIE, Mareike WENNING, Matthias A. EHRMANN, Rudi F. VOGEL, Hüseyin ERTEN, Giancarlo MOSCHETTI a Luca SETTANNI. The microbial diversity of water kefir: Review. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2011, **151**(3), 284-288 [cit. 2022-03-07]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.09.016

GUZEL-SEYDIM, Zeynep B., Çağlar GÖKIRMAKLI a Annel K. GREENE. *A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties* [online]. 2021, **113**, 42-53 [cit. 2022-04-04]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.04.041

HAMPTON, Jessica, Cindy TANG, Athira JAYASREE SUBHASH a Luca SERVENTI. Assessment of pear juice and puree as a fermentation matrix for water kefir. *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. 2021, **45**(3) [cit. 2022-03-28]. ISSN 0145-8892. Dostupné z: doi:10.1111/jfpp.15223

HESELTIME, C. W. A Millennium of Fungi, Food, and Fermentation. *Taylor and Francis* [online]. 2018, 782-793 [cit. 2022-02-24]. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/action/doSearch?AllField=10.1080%2F00275514.1965.12018201&SeriesKey=umyc20>

HUDCOVÁ, Kateřina. Stanovení biogenních aminů v produktech živočišného původu z farmářské produkce [online]. Zlín, 2012 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://theses.cz/id/7um9s0/>. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Ing. Helena Velichová, Ph.D.

JANOŮŠKOVÁ, Magda. Biogenní aminy. Brno, 2010. Bakalářská práce. Masarikova Univerzita v Brně.

JANOŤKOVÁ, Magda. *Biogenní aminy*. Brno, 2010. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita v Brně. Vedoucí práce RNDr. Danuše Lefnerová, Ph.D.

JAYABALAN, R., P. SUBATHRADEVI, S. MARIMUTHU, M. SATHISHKUMAR a K. SWAMINATHAN. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry* [online]. 2008, **109**(1), 227-234 [cit. 2022-04-04]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2007.12.037

JAYABALAN, Rasu, Radomir V. MALBAŠA, Eva S. LONČAR, Jasmina S. VITAS a Muthuswamy SATHISHKUMAR. A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014, **13**(4), 538-550. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12073

KOH, Wee Yin, Uthumporn UTRA, Ahmad ROSMA, Mohd. Esah EFFARIZAH, Wan Ishak Wan ROSLI a Yong-Ha PARK. Development of a novel fermented pumpkin-based beverage inoculated with water kefir grains: a response surface methodology approach. *Food Science and Biotechnology* [online]. [cit. 2022-04-05]. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-017-0245-5

KOH, Wee Yin, Uthumporn UTRA, Rosma AHMAD, Irfan A. RATHER a Yong-Ha PARK. Evaluation of probiotic potential and anti-hyperglycemic properties of a novel *Lactobacillus* strain isolated from water kefir grains. *Food Science and Biotechnology* [online]. 2018, **27**(5), 1369-1376 [cit. 2022-03-01]. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-018-0360-y

LAUREYS, David, Luc DE VUYST a M. W. GRIFFITHS. Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 2014, **80**(8), 2564-2572 [cit. 2022-05-04]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.03978-13

LAUREYS, David, Scott J. BRITTON a Jessika DE CLIPPELEER. Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* [online]. 2020, **78**(3), 165-174 [cit. 2022-03-28]. ISSN 0361-0470. Dostupné z: doi:10.1080/03610470.2020.1734150

LIM, X.X., W.Y. KOH, U. UTHUMPORN, M. MAIZURA a W.I. WAN ROSLI. The development of legume-based yogurt by using water kefir as starter culture. *International Food Research Journal* [online]. 2019, **26**(4), 1219 - 1228 [cit. 2022-03-02]. ISSN

22317546.

Dostupné

z:

<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edselc&an=edselc.2-52.0-85072609518&scope=site>

LIU, CH. The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. *Food Microbiology* [online]. 1996, **13**(6), 407-415 [cit. 2022-02-24]. Dostupné z: doi:17:201–16

LORENCOVÁ, Eva, Richardos Nikolaos SALEK, Leona BUŇKOVÁ, Marie SZCZYBROCHOVÁ, Michaela ČERNÍKOVÁ a František BUŇKA. Assessment of biogenic amines profile in ciders from the Central Europe region as affected by storage time. *Food Bioscience* [online]. 2021, **41** [cit. 2022-04-20]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2021.100957

LORENCOVÁ, Eva, Richardos Nikolaos SALEK, Leona BUŇKOVÁ, Marie SZCZYBROCHOVÁ, Michaela ČERNÍKOVÁ a František BUŇKA. Assessment of biogenic amines profile in ciders from the Central Europe region as affected by storage time. *Food Bioscience* [online]. 2021, **41** [cit. 2022-04-24]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2021.100957

LYNCH, Kieran M., Stuart WILKINSON, Luk DAENEN a Elke K. ARENDT. An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2021, **345** [cit. 2022-03-01]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128

MARTÍNEZ LEAL, Jessica, Lucía VALENZUELA SUÁREZ, Rasu JAYABALAN, Joselina HUERTA OROS a Anayansi ESCALANTE-ABURTO. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food* [online]. 2018, **16**(1), 390-399 [cit. 2022-04-04]. ISSN 1947-6337. Dostupné z: doi:10.1080/19476337.2017.1410499

MLČOCH, Zbyněk. Černý fermentovaný česnek - účinky na zdraví, co léčí, použití, užívání, využití. Bylinky pro všechny [online]. Určice u Prostějova: Mlčochová, 2018 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://www.bylinkyprovsechny.cz/byliny-kere-stromy/byliny/1481-cerny-cesnek-ucinky-na-zdravi-co-leci-pouziti-uzivani-vyuziti>

NAGPAL, Ravinder, Ashwani KUMAR, Manoj KUMAR, Pradip V. BEHARE, Shalini JAIN a Hariom YADAV. Probiotics, their health benefits and applications for developing

healthier foods: a review. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 2012, **334**(1), 1-15 [cit. 2022-03-07]. ISSN 03781097. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6968.2012.02593.x

NEFFE-SKOCIŇSKA, Katarzyna, Barbara SIOŇEK, Iwona ŚCIBISZ a Danuta KOŁOŻYŇ-KRAJEWSKA. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA - Journal of Food* [online]. 2017, 15(4), 601-607 [cit. 2022-05-04]. ISSN 1947-6337. Dostupné z: doi:10.1080/19476337.2017.1321588

OZCELIK, Ferhat, Ecem AKAN a Ozer KINIK. Use of Cornelian cherry, hawthorn, red plum, roship and pomegranate juices in the production of water kefir beverages. *Food Bioscience* [online]. 2021, **42** [cit. 2022-03-02]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2021.101219

PRIMIANI, C. Novi, PUJIATI, Mahda MUMTAHANAH a Waskitho ARDHI. Kombucha fermentation test used for various types of herbal teas. *Journal of Physics: Conference Series* [online]. 2018, **1025** [cit. 2022-02-24]. ISSN 1742-6588. Dostupné z: doi:10.1088/1742-6596/1025/1/012073

PROKOP, Filip. *Vliv vizkozity na proudové charakteristiky nenewtonských kapalin*. Praha, 2017. Bakalářská práce.

RANDAZZO, Walter, Onofrio CORONA, Rosa GUARCELLO, Nicola FRANCESCA, Maria Antonietta GERMANÀ, Hüseyin ERTEN, Giancarlo MOSCHETTI a Luca SETTANNI. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology* [online]. 2016, **54**, 40-51 [cit. 2022-03-07]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2015.10.018

RODRIGUES, Kamila Leite, Lucélia Rita Gaudino CAPUTO, Jose Carlos Tavares CARVALHO, João EVANGELISTA, Jose Maurício SCHNEEDORF, Hüseyin ERTEN, Giancarlo MOSCHETTI a Luca SETTANNI. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract: Review. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. 2005, **25**(5), 404-408 [cit. 2022-03-07]. ISSN 09248579. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijantimicag.2004.09.020

ROCHA-GOMES, Arthur, Amanda ESCOBAR, Jéssica Silva SOARES, Alexandre Alves da SILVA, Nísia Andrade Villela DESSIMONI-PINTO a Tania Regina RIUL. Chemical composition and hypocholesterolemic effect of milk kefir and water kefir in Wistar

rats. *Revista de Nutrição* [online]. 2018, **31**(2), 137-145 [cit. 2022-03-01]. ISSN 1678-9865. Dostupné z: doi:10.1590/1678-98652018000200001

ŘEZNÍČEK, Oldřich. Měření vybraných parametrů magnetických kapalin v různých externích podmínkách. 2014. Diplomová práce. Západočeská univerzita v Plzni.

STEJSKAL, Jan. PROUDĚNÍ MAGNETICKÉ KAPALINY S APLIKACÍ BINGHAMOVA MODELU. Brno, 2013. Diplomová práce. VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ.

TOMÁNKOVÁ E., RADA V., KILLER J., 2006: Potravinářská mikrobiologie. Praha: ČZU v Praze, 168 s. ISBN 80-213-1583-0.

TRAN, Thierry, Cosette GRANDVALET, François VERDIER, Antoine MARTIN, Hervé ALEXANDRE a Raphaëlle TOURDOT-MARÉCHAL. Microbial Dynamics between Yeasts and Acetic Acid Bacteria in Kombucha: Impacts on the Chemical Composition of the Beverage. *Foods* [online]. 2020, **9**(7) [cit. 2022-04-04]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9070963

TU, Chuanhai, Fidelis AZI, Jin HUANG, Xiao XU, Guangliang XING a Mingsheng DONG. Quality and metagenomic evaluation of a novel functional beverage produced from soy whey using water kefir grains. *LWT* [online]. 2019, **113** [cit. 2022-04-05]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2019.108258

TZAVARAS, Dimitris, Marina PAPADELLI a Ioanna NTAIKOU. From Milk Kefir to Water Kefir: Assessment of Fermentation Processes, Microbial Changes and Evaluation of the Produced Beverages. *Fermentation* [online]. 2022, **8**(3) [cit. 2022-04-04]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation8030135

UGALE, Vishal. Preparation of kombucha tea review on: Different kinds of microorganism's used for development of the kombucha. *International Journal of Advances in Engineering and Management* [online]. 05-03-2021, **2021**, 815-822 [cit. 2022-04-04]. ISSN 2395-5252. Dostupné z: doi:10,35629 / 5252-0302815822

VÁZQUEZ-CABRAL, Blanca D., Nuria E ROCHA-GUZMÁN a José A. GALLEGOS-INFANTE. Chemical and sensory evaluation of a functional beverage obtained from infusions of oak leaves (*Quercus resinosa*) inoculated with the kombucha consortium under different processing conditions. *Nutrapotravinny* [online]. 2014, **2014**(13), 170-178 [cit. 2022-02-24]. Dostupné z: doi:10.1007 / s13749-014-0035-0

Vlastnosti vybraných netradičních fermentovaných nápojů. Zlín, 2021. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

VOHRA, Batul, Shazrul FAZRY, Fareed SAIRI a Babul Airianah OTHMAN. Effects of medium variation and fermentation time towards the pH level and ethanol content of Kombucha. *CyTA - Journal of Food* [online]. 2017, 2019, 15(4), 040008- [cit. 2022-05-04]. ISSN 1947-6337. Dostupné z: doi:10.1063/1.5111247

VUKMANOVIĆ, Stefan, Jasmina VITAS a Radomir MALBAŠA. Valorization of winery effluent using kombucha culture. *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. 2020, 44(8) [cit. 2022-03-02]. ISSN 0145-8892. Dostupné z: doi:10.1111/jfpp.14627

VYKROUPAL, Matěj. Měření elektrické vodivosti kolagenu. Praha, 2016. Bakalářská práce. České vysoké učení technické v Praze.

WATAWANA, Mindani I., Nilakshi JAYAWARDENA, Chaminie B. GUNAWARDHANA a Viduranga Y. WAISUNDARA. *Enhancement of the antioxidant and starch hydrolase inhibitory activities of king coconut water (Cocos nucifera var. aurantiaca) by fermentation with kombucha 'tea fungus'* [online]. 2016, 51(2), 490-498 [cit. 2022-02-24]. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.13006

WOLFOVÁ, Marcela. Laboratorní analýza svrchně kvašeného piva. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2014, 61 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/30896>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav analýzy a chemie potravin. Vedoucí práce Najmanová, Helena.

XIA, Xiudong, Yiqiang DAI, Han WU, et al. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *Journal of Functional Foods* [online]. 2019, 62 [cit. 2022-04-04]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2019.103549

XU, Jian, Michael A MAHOWALD, Ruth E LEY, et al. *PLoS Biology* [online]. 2007, 5(7) [cit. 2022-03-02]. ISSN 1545-7885. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pbio.0050156

YIKMIŞ, Seydi a Sergen TUĞGÜM. Evaluation of Microbiological, Physicochemical and Sensorial Properties of Purple Basil Kombucha Beverage. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology* [online]. 2019, 7(9), 1321-1327 [cit. 2022-03-07]. ISSN 2148-127X. Dostupné z: doi:10.24925/turjaf.v7i9.1321-1327.2550

ZUBAIDAH, E, R. A IFADAH a C.A AFGANI. Changes in chemical characteristics of kombucha from various cultivars of snake fruit during fermentation. *Department of*

*Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia* [online]. 2019, **2019**(230), 1-7 [cit. 2022-02-24]. Dostupné z: doi:10.1088 / 1755-1315 / 230/1/012098

ZUBAIDAH, E, S YURISTA a N R RAHMADANI. Characteristic of physical, chemical, and microbiological kombucha from various varieties of apples. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* [online]. 2018, **131**(1) [cit. 2022-02-24]. ISSN 1755-1307. Dostupné z: doi:10.1088/1755-1315/131/1/012040

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

BMK= bakterie mléčného kvašení

CAD= Cadaverin

CO<sub>2</sub> = oxid uhličitý

HIS= Histamin

PEA= Phenyl-ethylamin

PUT= Putrescin

RS = Refraktometrická sušina

SCOBY = Symbiotic Culture Of Bacterias and Yeasts

SPM= Spermin

TIBI = zrna vodního kefiru

TYM= tyramin

pH= aktivní kyselost

BAs= biogenic amines



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<b>Obrázek 1.</b> Rozdíl mezi zrny vodního a mléčného kefiru.....	17
<b>Obrázek 2.</b> Násada SCOBY.....	19
<b>Obrázek 3.</b> Dračí ovoce Salak.....	27
<b>Obrázek 4.</b> Černý česnek.....	29
<b>Obrázek 5.</b> Tokové křivky kapalin.....	38
<b>Obrázek 6.</b> Naměřené hodnoty pH u vodního kefiru .....	41
<b>Obrázek 7.</b> Naměřené hodnoty pH kombuchy.....	42
<b>Obrázek 8.</b> Obsah refraktometrické sušiny u vodního kefiru .....	43
<b>Obrázek 9.</b> Obsah refraktometrické sušiny u kombuchy .....	44
<b>Obrázek 10.</b> Růst obsahu ethanolu ve vzorcích vodního kefiru .....	46
<b>Obrázek 11.</b> Růst obsahu ethanolu ve vzorcích kombuchy.....	47
<b>Obrázek 12.</b> Hustota u vodního kefiru .....	48
<b>Obrázek 13.</b> Hustota u kombuchy.....	48
<b>Obrázek 14.</b> Vývoj zdánlivé viskozity u TB.....	52
<b>Obrázek 15.</b> Vývoj zdánlivé viskozity u TBS.....	52
<b>Obrázek 16.</b> Vývoj zdánlivé viskozity u KMB.....	55
<b>Obrázek 17.</b> Vývoj zdánlivé viskozity u KMBS.....	55
<b>Obrázek 18.</b> Výskyt biogenních aminů u TB .....	57
<b>Obrázek 19.</b> Výskyt biogenních aminů u TBS.....	58
<b>Obrázek 20.</b> Výskyt biogenních aminů u KMB.....	60
<b>Obrázek 21.</b> Výskyt biogenních aminů u KMBS.....	61
<b>Obrázek 22.</b> Sensorická analýza u TBS.....	63
<b>Obrázek 23.</b> Sensorická analýza u TBS.....	64
<b>Obrázek 24.</b> Sensorická analýza u KMB.....	65
<b>Obrázek 25.</b> Sensorická analýza u KMBS.....	66
<b>Obrázek 26.</b> Znázornění preferenčního testu.. ..	67

**SEZNAM TABULEK**

<b>TABULKA 1.</b> Naměřené hodnoty z přístroje Anton Paar.....	49
<b>TABULKA 2.</b> Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorků vodního keříru.....	51
<b>TABULKA 3.</b> Výsledné hodnoty z Power Law modelu u vzorků vodního keříru.....	54

## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Název přílohy

## **PŘÍLOHA P I: NÁZEV PŘÍLOHY**