

# Vliv vybraných parametrů na průběh fermentace modelových systémů pomocí symbiotických kultur

Markéta Mikešová

---

Bakalářská práce  
2023

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická  
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2022/2023

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Markéta Mikešová**  
Osobní číslo: **T20355**  
Studijní program: **B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin**  
Specializace: **Technologie potravin**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **Vliv vybraných parametrů na průběh fermentace modelových systémů pomocí symbiotických kultur**

## Zásady pro vypracování

### I. Teoretická část

Popište současný stav řešené problematiky nápojů se symbiotickými kulturami.

Popište výrobu nápojů typu kombucha a vodní kefir.

Vybrané vlastnosti nápojů typu kombucha a vodní kefir.

### II. Praktická část

Vyrobte modelové vzorky s přidáním symbiotických kultur.

Proveďte vybrané analýzy.

Výsledky zhodnoťte a zformulujte závěry.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] AHMED, Rania F., Mohamed S. HIKAL a Khadiga A. ABOU-TALEB. Biological, chemical and antioxidant activities of different types Kombucha. *Annals of Agricultural Sciences* [online]. 2020, (65), 35-41 [cit. 2021-02-08]. ISSN 0570-1783
- [2] 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. 2021-04-21]. ISSN 0023-6438
- [3] BAMFORTH, Charles W. a David J. COOK. *Food, fermentation and microorganisms* [online]. Second edition. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2019, 1 UTB ve Zlíně, Fakulta technologická 94 online zdroj. ISBN 9781119557456
- [4] Leonarski, E., Cesca, K., Zanella, E., Stambuk, B. U., de Oliveira, D., & Poletto, P. (2021). Production of kombucha-like beverage and bacterial cellulose by acerola byproduct as raw material. *Lwt*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110075>
- [5] Coelho, R. M. D., Almeida, A. L. de, Amara, R. Q. G. do, Mota, R. N. da, & Sousa, P. H. M. de. (2020). Kombucha: Review. *International Journal Of Gastronomy And Food Science*, 22. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>

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

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2022**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

---

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

---

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

Ve Zlíně dne 20. února 2023

## PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou 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 – bakalářskou 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 bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji 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 na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

V dnešní době se spotřebitelé stále více zabývají a hledají různé produkty, které by podpořily jejich zdravotní kondici a imunitu. Kombucha se stává stále více oblíbenou, hlavně mezi mladými lidmi. Do popředí se dostává i vodní kefir s cílem nahradit mléčné výrobky pro lidi, kteří trpí alergií na mléčnou bílkovinu nebo intolerancí na laktózu.

První část bakalářské práce obsahuje teoretické informace týkající se vodního kefiru a kombuchy. Zejména jakým způsobem se uvedené nápoje připravují, průběh fermentace, jejich chemické složení a jaké mohou mít pozitivní účinky na zdraví.

Cílem této práce bylo zjistit a vyhodnotit, vliv vybraných parametrů ovlivňující průběh fermentace vodního kefiru pomocí symbiotické kultury bakterií a kvasinek. Těmito parametry a konkrétním měřením se zabývá druhá část bakalářské práce. Analýzy byly prováděny v průběhu pěti dnů po 24 hodinách. U dvanácti modelových vzorků byly stanoveny změny pH, refraktometrické sušiny, TDS, ethanolu a hustoty u dvanácti modelových vzorků.

Ze všech naměřených hodnot vyplývá, že neoptimálnější pro fermentaci vodního kefiru je roztok vodního kefiru, který obsahoval 10% dextrózy a byl bez úpravy pH. Naopak fermentace probíhala nejpomaleji u roztoků s nejmenšími měřenými koncentracemi dextrózy a sacharózy ve vzorku.

Největší změny hodnot byly pozorovány u nárůstu obsahu ethanolu, kdy u vodního kefiru s 10% roztoku dextrózy činil rozdíl mezi prvním a pátým měřeným dnem 0,19 %. Hustota všech měřených vzorků výrazně neklesala. Změny pH se během pěti dnů snížily v průměru o 1,5. Největší změny byly pozorovány u měřených vzorků, u kterých bylo pH upraveno přidáním kyseliny citronové. Refraktometrická sušina klesla v průběhu pěti dní fermentace u většiny vzorků. Kromě toho byly změny naměřených hodnot pozorovány také u TDS (Total dissolved solids/ celkový počet rozpuštěných látek), kde se hodnoty během pěti dnů zvýšily až o 332,20 ppm.

**Klíčová slova:** vodní kefir, fermentace, dextróza, sacharóza

## **ABSTRACT**

Nowadays, consumers are dealing with their health more and more and also are looking for different foodstuff to support their health and immunity. Kombucha is becoming more and more popular, especially among young people. Moreover, water kefir is also coming to the fore with the aim of replacing dairy products for people who are lactose intolerant or allergic to milk proteins.

The first part of the current thesis contains basic theoretical information about water kefir and kombucha. In particular how the above mentioned beverages are manufactured, their fermentation process, their chemical composition and what health benefits they may provide.

The aim of this work was to determine and evaluate the influence of selected parameters affecting the fermentation process of water kefir using symbiotic culture of bacteria and yeast. These parameters and specific measurements were the subject of the second part of the bachelor thesis. The analyses were performed during five days after 24 hours. Changes in pH, total soluble solids, total dissolved solids, ethanol content and density were determined for twelve model samples.

All measured values showed that the most optimal solution for water kefir fermentation was the solution containing 10% dextrose and without pH adjustment. In contrast, fermentation was slowest for the solutions with the lowest measured concentrations of dextrose and sucrose in the sample.

The most intensive changes in values were observed in the increase in ethanol content, where for the water kefir with 10% dextrose solution the difference between the first and fifth measured day was 0.19%. The density of all measured samples did not decrease rapidly. The pH changes decreased by 1,5 on average over the five days. The largest changes were observed in the samples measured where the pH was adjusted by the addition of citric acid. The total soluble solids values decreased over the five days of fermentation for most of the examined samples. In addition, changes of the measured values were also observed in the TDS (Total dissolved solids), where the values increased up to 332.20 ppm during the five days.

Keywords: water kefir, fermentation, dextrose, sucrose

V první řadě bych ráda vyjádřila upřímné poděkování svému vedoucímu práce doc. Ing. Richardosu Nikolaosu Salekovi, Ph. D. za odborné znalosti, vedení, užitečnou zpětnou vazbu a trpělivost. Velké poděkování patří také kolegovi Patriku Minářovi za spolupráci při měření a v neposlední řadě mé rodině za neustálou podporu při studiu.

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 KOMBUCHA</b> .....	<b>12</b>
1.1 HISTORIE .....	12
1.2 OBECNÉ INFORMACE .....	13
1.3 VÝROBA .....	13
1.3.1 Čaj .....	14
1.4 SLOŽENÍ KOMBUCHY .....	15
1.4.1 Chemické složení .....	15
1.4.2 SCOBY .....	16
1.4.3 Sacharidy .....	16
1.4.4 Vitamíny, minerální látky .....	16
1.4.5 Aminokyseliny .....	17
1.4.6 Kofein.....	17
1.4.7 Ethanol .....	17
1.5 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY .....	18
<b>2 VODNÍ KEFÍR</b> .....	<b>20</b>
2.1 HISTORIE VODNÍHO KEFÍRU .....	20
2.2 ZÁKLADNÍ INFORMACE.....	21
2.2.1 Zrna vodního kefíru.....	21
2.3 SLOŽENÍ .....	22
2.4 VÝROBA .....	23
2.5 LEGISLATIVA VODNÍHO KEFÍRU .....	23
2.6 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY .....	24
2.6.1 Bifidobakterie.....	24
2.6.2 Probiotické mikroorganismy .....	24
2.7 ROZDÍL MEZI MLÉČNÝM A VODNÍM KEFÍREM.....	25
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>27</b>
<b>3 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>28</b>
<b>4 METODIKA PRÁCE</b> .....	<b>29</b>
4.1 VYUŽÍVANÝ MATERIÁL A METODY STANOVENÍ.....	29
4.1.1 Použité suroviny .....	29
4.1.2 Použité přístroje .....	29
4.2 PŘÍPRAVA MODELOVÝCH VZORKŮ .....	29
4.2.1 Výroba zákysu vodního kefíru .....	30
4.2.2 Příprava modelových vzorků .....	30



4.3	FYZIKÁLNĚ CHEMICKÁ ANALÝZA .....	32
4.3.1	Ethanol .....	32
4.3.2	Hustota .....	32
4.3.3	pH.....	32
4.3.4	TDS .....	33
4.3.5	Refraktometrická sušina.....	33
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>34</b>
5.1	ZMĚNA MNOŽSTVÍ ETHANOLU .....	34
5.2	VÝSLEDKY ZMĚNY HUSTOTY.....	37
5.3	VÝSLEDKY ZMĚNY PH.....	39
5.4	VÝSLEDKY ZMĚNY TDS.....	42
5.5	VÝSLEDKY ZMĚNY REFRAKTOMETRICKÉ SUŠINY .....	45
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>47</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>48</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>56</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>57</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>58</b>

## ÚVOD

Kombucha a vodní kefir se řadí mezi fermentované rostlinné nápoje, které se v poslední době dostávají do povědomí nejen mladých lidí, hlavně díky slibné nabídce zdraví prospěšných látek jako jsou probiotika a prebiotika přispívající ke správné funkci trávicího ústrojí nebo vitaminy pro lepší funkci imunitního systému. Na trhu se vyznačují svou jedinečnou, originální chutí. Jsou skvělou alternativou nealkoholických nápojů. Spadají pod potravinářské výrobky, které využívají vybrané kyselé kultury bakterií mléčného kvašení.

[1]

Mikroorganismy v kombuše a vodním kefiru zkvašují sacharidy a produkují organické kyseliny a ethanol. Chuť kombuchového čaje je oproti vodnímu kefiru výraznější a kyselejší. Kombucha je lehce sladkokyselá, a mírně sycená, tím pádem se stává skvělým osvěžujícím nápojem. Vzniká fermentací čaje s cukrem pomocí kultury SCOBY (Symbiotics Culture of Bacterias and Yeasts). [1,2]

Vodní kefir je mléčně kvašený, nasládlý, mírně perlivý nápoj, podobný limonádě a relativně zdravější. Perlivost vzniká v důsledku produkce oxidu uhličitého kvasinkami. [2]

Kombucha i vodní kefir mají nízký obsah cukru, poskytují prospěšná probiotika a přinášejí spoustu dalších zdraví prospěšných látek. Kombucha má zřejmě více živin jako jsou enzymy a antioxidanty, za to vodní kefir disponuje větším množstvím probiotických bakterií. A proto je zejména vodní kefir výbornou alternativou k mléčným výrobkům a mléku. [2] Záleží na každém z nás, který z výše zmíněných nápojů budeme preferovat.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 KOMBUCHA

Kombucha, někdy mylně označována jako houba, je fermentovaný lehce perlivý nápoj, který vzniká fermentací čaje (zejména černého nebo zeleného), procesem kvašením vytvoří tvar zdánlivě připomínající houbu [1]. Tato částečně zamezí přístupu vzduchu a mikroorganismům ke stabilizaci vnitřního prostředí. Přesněji se jedná o SCOBY (angl. zkratka Symbiotics Culture of Bacterias and Yeasts) – symbioticky působící kulturu bakterií a kvasinek [1,2]. Tyto symbiotické bakterie a kvasinky přispívají k mikroflórní rovnováze, antimikrobiální rovnováze, a navíc bylo zjištěno i několik protirakovinotvorných vlastností [2].

### 1.1 Historie

Původ kombuchy není přesně doposud objasněn, ale první záznamy o jejím užívání pocházejí z oblasti Mandžuska, která se nachází na severním území starověké Číny, a to z 2. století př. n. l. za dynastie Tsin [3].

Nápoj označovaný za elixír života svůj nynější název údajně dostal po dávném lékaři, který v té době pobýval na území Koreji, Kombu, který ho dopravil do Japonska a s jehož pomocí vyléčil císaře Inkia. Odtud tedy Kombu a japonské pojmenování čaje, tedy Cha – Kombucha. Tento poměrně osvěžující nápoj s povzbuzujícími a prospěšnými účinky na lidský organismus si získal oblibu především v Japonsku. V této zemi byl pak nápoj hojně užíván také Geishy, které věřily, že jim Kombucha pomáhá udržet štíhlé postavy, vyhladí a zdokonalí pleť a zachová barvu a lesk jejich vlasů.

V 19. století „záračná houba“ doputovala do Ruska, kde byla také poprvé vědecky prozkoumána, díky své pověsti nápoje sloužícího k prevenci a léčbě rakoviny. V roce 1920 o kombuše vyšel první článek v ruských novinách, a tak se začala zaznamenávat její historie. Po drobném úpadku v první polovině 20. letech, který způsobily fámy o tom, že houba v lidském organismu dál roste, se okolo roku 1928 začaly objevovat práce českých mykologů, které tyto fámy vyvracely.

Vědci prokázali, že nápoj obsahuje škálu vitamínů, ale také alkohol, kvasinky a bakterie. Přesto, že závěry nepotvrzovaly až tak velké léčivé účinky, tak jejich práce zpopularizovala význam některých vitamínů, zejména pak laktobacilů pro lidský organismus. Po 2. světové válce vymizela kombucha z domácností v důsledku nedostatku potravin, v tomto případě hlavně cukru, který je potřeba při procesu kvašení. V dnešní době se stává opět dostává do

povědomí i v zemích, ve kterých nejsou kvašené nápoje běžné tak jako v Asii či Východní Evropě [4].

## 1.2 Obecné informace

Kombucha je osvěžující, kvašený nápoj původem z Asie. Po více jak tisíc let se nejvíce vyrábí a spotřebovává ve východních zemích. Nejstarší zmínky pocházejí z Číny, Ruska, Filipín, Koreji, Japonska nebo třeba Indie [1,3]. Největšími konzumenty kombuchy jsou jednoznačně obyvatelé Spojených států Amerických. Spotřebují více než polovinu ze všech vyrobených nápojů. Nyní začíná být tento nápoj velmi populární i v Evropských zemích, a to zejména u mladší generace lidí. Na Evropském trhu kombuchu spotřebovává hlavně Rusko a Spojené království [5].

Nápoj chutná mírně kyselé a je lehce sycený. Vzniká fermentací černého nebo zeleného čaje, který musí být slazený. Oba čaje vznikají z listů rostliny *Camellia sinensis*, rozdíl mezi nimi spočívá pouze ve způsobu zpracování listů. Množství a poměr cukru a čaje je odlišný. Záleží na preferencích určitých států nebo regionů [1,2].

Dále se přidává kultura obsahující seskupení symbiotických kultur kvasinek a bakterií (SCOBY = Symbiotic Culture Of Bacterias and Yeasts) [2]. Úkolem kvasinek v kombuše je zkvašování cukrů a následná produkce ethanolu. Bakterie v nápoji oxidují alkohol a poté vyprodukují kyselinu octovou. Ta ale není jediná, která v nápoji vzniká. Vyskytují se zde i jiné organické kyseliny, mezi které se řadí například kyselina mléčná, vinná, jablečná nebo citronová. Vyznačují se antibakteriálními účinky, což znamená, že mají schopnost usmrcovat patogenní bakterie, které by mohly kombuchu kontaminovat [3,6].

Kombucha se poslední dobou dostává hodně do popředí, a to hlavně díky svým zdravotním benefitům, zejména díky antimikrobiálním, antioxidantním, antidiabetickým, protirakovinným účinkům [7,8].

Kombucha obsahuje probiotické mikroorganismy, polyfenoly, aminokyseliny, vitamíny a mikroživiny, které v nápoji vznikají v průběhu fermentace. Dále se také může využívat jako podpora při léčbě žaludečních vředů a vysokého cholesterolu [9].

## 1.3 Výroba

Základní surovinou pro výrobu kombuchy je čaj, který musí být slazený. Nejvíce se využívá čaj černý. Zelený čaj lze ovšem použít také. Pro svou chuť je však preferovanějším čajem

čaj černý. Příprava čaje je důležitou součástí při výrobě kombuchy [9]. Existuje několik druhů čaje a to zelený, černý, tmavý (včetně Pu-ehr), žlutý, bílý nebo Oolong. Celkovou produkci na světě tvoří černý čaj a to přibližně 78 %, zelený čaj pak cca 20 % a čaj Oolong zhruba 2 %. Rozdíly mezi výše zmíněnými šesti druhy čajů spočívají v trhání lístků v různých fázích růstu a v následné možné fermentaci [10]. Pro přípravu kombuchy se však nejvíce využívá čaj černý [9]. Čajové lístky buď černého, nebo zeleného, popřípadě bylinného čaje se přidají do předem vroucí vody, ve které se následně nechají zhruba 10 minut vylouhovat. Delší louhování by mohlo vést ke zhořknutí čaje nebo ke změně typické chuti čaje pro konzumenta. Lístky se následně z nádoby odeberou [9,10].

Do takto připraveného výluhu z čaje se přidá sacharóza. Čaj by měl být stále horký, kvůli lepší rozpustnosti cukru. Doporučené množství je 50 gramů sacharózy na jeden litr čaje. Takto připravený roztok se okyselí přidávkem octa nebo se přidá již připravená Kombucha. Čajová houba se vkládá do horní části čaje. Takto připravený čaj pro výrobu nápoje z kombuchy se překryje čistou látkou, která se připevní, aby z něj nemohla spadnout, protože část procesu kvašení probíhá anaerobně (za nepřístupu kyslíku). Nápoj se následně nechá inkubovat nejlépe při pokojové teplotě, což odpovídá cca 20 °C. Dceřiná čajová houba vzniká během fermentace. Kvašení probíhá minimálně týden až osm týdnů a nápoji dává mírnou perlivost a lehkou octovou příchuť. Při této anaerobní fermentaci vzniká velmi nízké množství alkoholu, a to do jednoho procenta. Následně se z čaje odebere vzniklý houbovité film (jedná se o žijící symbiotickou kulturu kvasinek a bakterií), který lze uchovávat v menším objemu fermentovaného čaje. Kvůli houbovému filmu je kombucha nesprávně zaměňována a označována jako houba. Hotový nápoj se skladuje nejlépe v uzavřených nádobách při nižších teplotách kolem 4 °C [9].

### 1.3.1 Čaj

Jedná se o druhý nejvíce konzumovaný nápoj na světě. Před čajem se nachází pouze voda. Čaj se nejvíce pije ve Velké Británii, kde ho konzumuje více než 80 % dospělých osob [11]. Tento téměř nejvíce využívaný nápoj se vyrábí z listnaté rostliny nazývané *Camellia sinensis*, která se nejvíce pěstuje v subtropických a tropických oblastech našeho světa. Mezi největší producenty čaje jsou Čína, Indie, Srí Lanka, Indonésie nebo Keňa [12]. Čína čaje vyváží do všech koutů země, kdežto Indie z velké části čaj, který vypěstuje, nevyváží, ale ponechá ke spotřebě na domácím trhu. Mezi největší spotřebitele čaje na trhu se řadí Turecko, Velká Británie, Rusko nebo Maroko [12,13].

Čajovník se na zemi zpracovává různými způsoby. Nejvíce se však zpracování liší ve sběru lístků čajovníku, a to v odlišné růstové fázi. Tyto posbírané lístky se dále zpracovávají procesem částečného sušení a následné oxidace. Ta je jedním z hlavních faktorů způsobující charakteristickou chuť různých druhů čaje. Hodně záleží na stupni oxidace neboli fermentaci. K výrobě zeleného čaje, který je konzumován nejvíce v Japonsku a Číně, se používají čerstvé lístky. Ty se vaří v páře, díky které lze zabránit enzymatické oxidaci. Země nacházející se na západě preferují spíše čaj černý, který se vyrábí oxidací čajových lístků, vytvrzením macerací a vystavením lístků vzduchu. Čaj Oolong se hojně konzumuje v Tchaj-wanu nebo Číně a pro něj je typickým výrobním procesem polofermentace, při které dochází k mírné enzymatické oxidaci [14].

Čaj, který je kvalitní, a to buď zelený nebo černý, má spoustu zdravotních benefitů. Výrazné antioxidační vlastnosti mají látky, jako jsou katechiny a polyfenoly, které tyto výhodné účinky následně předávají nápoji. Navíc při fermentaci se antioxidační vliv ještě více navyšuje oproti látkám, které obsahuje obyčejný nefermentovaný čaj. Právě díky tomu, že se kombucha vyrábí z čaje obsahuje v sobě přírodní kofein [14,15].

Čajové listy používané k výrobě kombuchy mají ve značné míře vliv na koncentraci sloučenin, jelikož jejich složení bylo po chemické stránce důkladně prozkoumáno [5].

## 1.4 Složení kombuchy

Obecné složení kombuchy je kvalitativně i kvantitativně různé. Ovlivňuje ho spousta faktorů jako je například množství cukru, druh čaje, okolní teplota, přísun kyslíku, doba fermentace, mikroorganismy v inokulu atd. Mezi hlavní složky nacházející se v tomto nápoji patří zelený nebo černý čaj představující úplný základ nápoje. Následně se musí přidat cukr, který je zdrojem pro bakterie a kvasinky (SCOBY) při procesu fermentace. Při kvašení dochází k úbytku sacharidů a k tvorbě organických kyselin a ethanolu, které se stávají také nedílnou součástí nápoje [5,14].

### 1.4.1 Chemické složení

V kombuše se nachází celá řada chemických látek. Jedná se o organické kyseliny, aminokyseliny, vitamíny, biogenní aminy. Díky přislazování kvůli růstu bakterií a kvasinek obsahuje nápoj i cukry. Kromě těchto látek se zde nachází i puriny, lipidy, malé množství ethanolu. Při fermentaci vzniká i oxid uhličitý, který dodává kombuše jemnou perlivost. Jestliže se jako zdroj uhlíku při kvašení používá sacharóza, bude primárním metabolitem

produkovaným mikroorganismy kyselina octová. Sekundárními produkty pak mohou být kyselina glukonová a glukoronová. Dále obsahuje polyfenoly, minerální látky i přírodní kofein. Příliš dlouhé kvašení má za následek klesnutí pH na nízkou hodnotu a nápoj se stane nepitelným. Mikroorganismy totiž mají vliv na obsahu chemických látek. [5].

#### 1.4.2 SCOBY

SCOBY je anglické označení Symbiotic Culture Of Bacterias and Yeasts. V překladu to znamená symbiotická kultura bakterií a kvasinek [2]. Kombucha tvoří biofilm, což je symbiotické spojení kvasinek a bakterií kyseliny octové. Tento biofilm je označován jako čajová houba, především kvůli její konzistenci a tvaru. Zmíněná symbióza je velice silná, dokáže totiž zmírnit až potlačit výskyt a růst potencionálních bakterií, které by mohly čajovou houbu kontaminovat. Kvůli konzistenci a tvaru je schopná růst v zeleném nebo černém čaji, který musí být oslazený [2,9]. Na svém povrchu dochází ke vzniku povlaku šedé, později hnědé barvy. Jeho úkolem je částečně zabránit průniku vzduchu a vyživovat bakterie [16].

#### 1.4.3 Sacharidy

Nejčastěji se při výrobě kombuchy využívá sacharóza. Jedná se o disacharid, to znamená, že je tvořena ze dvou cukerných jednotek. První cukernou jednotkou je glukóza a druhou fruktóza. Ve stavu čistém hovoříme o krystalické látce, která má sladkou chuť [5,17].

#### 1.4.4 Vitamíny, minerální látky

Kombucha obsahuje celou řadu vitamínů. Jelikož se vyrábí z čaje, převažuje obsah ve vodě rozpustných vitamínů. Jedním z těchto vitamínů je esenciální vitamin C. Lidské tělo si ho nedokáže vyrobit, proto jej musíme přijímat z potravy. Je všeobecně známý svými antioxidačními účinky, možnost chronického onemocnění je díky jeho konzumaci výrazně nižší, riziko srdečních vad také klesá. Vitamin C významně posiluje imunitní systém a pomáhá tělu vstřebávat obtížně vstřebatelné železo [18].

V nápoji se nachází i malé množství vitamínů skupiny B. Především se jedná o thiamin (B1), niacin (B3), riboflavin (B2) nebo biotin (B7) [18].

Mezi minerální látky, které kombuše předává čaj, patří železo, draslík, hořčík a mangan. Nápoj obsahuje i spoustu dalších minerálních látek, které jsou důležité hlavně pro



fyziologické a metabolické pochody, jedná se o anorganické látky [5,19]. V průběhu fermentace se minerální látky jako jsou měď, železo, mangan a zinek zvyšují. Kobalt zůstává ve stejném množství. [5]

#### 1.4.5 Aminokyseliny

Nápoje a potraviny obsahující aminokyseliny jsou pro tělo velice důležité. V čaji se nachází řada aminokyselin, jako je kyselina aspargová, treonin, alanin, valin, kyselina glutamová, glycin, leucin, isoleucin lysin, histidin, tryptofan, methionin a fenylalanin. Aminokyseliny se mohou přeměnit na biogenní aminy, které jsou velice důležité pro buněčný metabolismus, jiné mohou být naopak škodlivé, jestliže jsou konzumovány ve vysokých koncentracích. Pokud jsou biogenní aminy konzumovány ve velmi nízkých koncentracích, nemají na lidský organismus žádný vliv [5,16].

#### 1.4.6 Kofein

Známe zhruba 50 000 sekundárních metabolitů, které produkují rostliny, z toho více než jedna pětina z nich jsou alkaloidy. Kofein je purinový alkaloid nacházející se v přibližně více jak šedesáti druzích rostlin [20]. Jednou z nich je právě již zmiňovaný čaj, káva nebo kakao. Rostliny obsahují kofein právě kvůli své vlastní ochraně proti hmyzu. Přes 80 % populace užívá kofein díky jeho stimulačním účinkům na nervový systém a ke zvýšení energie, a právě proto se jedná o nejrozšířenější drogu v historii. Někteří lidé jsou na něj citliví, proto si musí hlídat množství jeho konzumace [15,20].

Čajový lístek je tvořen ze 3 až z 6 % kofeinu. To se může v různých listech lišit. Závisí to na podmínkách pěstování čaje a na jeho následném zpracování. V kombuše hraje kofein velkou roli při fermentaci. Dusík, který je v něm obsažený, poskytuje bakteriím a kvasinkám energii potřebnou pro bezproblémovou fermentaci a také je důležitý pro jejich metabolické procesy a stavbu nových buněk [20].

Zvýšená konzumace čaje může mít za následek vyšší tepovou frekvenci, třes, nespavost, zvýšený krevní tlak nebo dokonce i úzkost [5,20].

#### 1.4.7 Ethanol

Při alkoholovém kvašení vzniká jako vedlejší produkt ethanol. Čím déle probíhá fermentace, tím více se alkoholová koncentrace zvyšuje. Množství vzniklého alkoholu záleží na mnoha faktorech. Jedním z nich je množství cukru a kvasinek v nápoji. Úřad pro kontrolu potravin

a léčiv (FDA) zjistil, že kombucha může obsahovat 0,7 – 1,3 % objemového množství ethanolu. To se ve světě uchytilo, a tak některé firmy vyrábí takzvanou tvrdou kombuchu. Její obsah alkoholu je poměrně vyšší, a to od 3,5 do 5,5 objemových % alkoholu [5,11].

## 1.5 Zdravotní účinky

Fermentací vznikají výrazné změny ve složení a koncentraci chemických látek. Kombucha obsahuje nejen polyfenoly, které jsou součástí čajových lístků, ale také spoustu metabolitů vyprodukovaných mikroorganismy, které kombucha obsahuje [21].

Opravdu velkým benefitem a přínosem pravidelné konzumace nápoje kombucha pro naše zdraví je, že má v sobě obsaženo mnoho prospěšných kmenů probiotických bakterií a kvasinek. Ty našemu tělu napomáhají usměrnit střevní mikroflóru a tím pádem nám přispívají k její přirozené rovnováze a kvalitnější funkci střevní mikroflóry. Dále podporují správnou funkci trávicí soustavy [21,22].

Mikrobiom (jedná se o soustavu veškerých mikroorganismů nacházejících se v určitém prostředí) pro naše tělo představuje velmi důležitou součást. Jde zhruba o  $10^{13}$  –  $10^{14}$  bakterií, které se vyskytují v lidském trávicím traktu. Na něm totiž poměrně dost závisí imunita člověka, která je z více než 70 % ovlivňována správnou funkcí našich střev. Mezi další velmi pozitivní, zdraví prospěšné účinky patří antibiotické vlastnosti, regulace střevní, žaludeční a žlázové činnosti, ulevující účinky při revmatismu a hemeroidech. Na hladinu cholesterolu v krvi má také kladný vliv. Příznivě působí i na nervozitu, arteriosklerózu nebo třeba cukrovku, dále podporuje vylučování toxinů a čistí krev [22].

Existuje i zmínka ze studie z roku 1951, která byla provedena v Rusku v “Central Oncological Research Unit” a “Russian Academy of Sciences in Moscow”, tato studie zjistila, že konzumace kombuchy na denní bázi koreluje s mimořádně vysokou odolností vůči rakovině. Následující studie tento účinek potvrdily a předpokládaly, že dlouhodobé užívání zvyšuje odolnost imunitního systému a produkci interferonu [21,22].

Pozitivní účinky na zdravotní stav člověka se přisuzují hlavně kyselým složkám nápoje. Detoxikační účinky se připisují schopnostem kyseliny glukuronové, která má schopnost na sebe navázat molekuly toxinů, a následně umožnit rychlejší vyloučení ledvinami nebo střevy z organismu. Jelikož kumulace toxinů v ledvinách vede ke vzniku ledvinových kamenů, revmatismu nebo artritidě [22].

Své zdraví prospěšné vlastnosti kombuše i částečně předává čaj, z kterého se tento nápoj vyrábí. Zejména černý čaj je díky svým vlastnostem znám jako alternativa kávy nebo energetických nápojů. Během fermentace dochází ke vzniku látek s bioaktivními vlastnostmi, včetně theaflavinů, třkavých látek a alkaloidů. Dokáže si uchovat i vysoké množství polyfenolů, a to především katechiny a flavonoidy. Kromě černého čaje se na výrobu používá i čaj zelený nebo Oolong s antioxidačními a protizánětlivými účinky. Tyto čaje mají schopnost snižovat neurodegenerativní a kardiovaskulární onemocnění [21,22].

## 2 VODNÍ KEFÍR

Vodní kefir nepatří mezi mléčné nápoje. Do povědomí spotřebitelů se čím dál tím více dostávají nemléčné fermentované potraviny. Jedním z důvodů je náhražka za mléčné výrobky kvůli alergiím nebo intoleranci na laktózu, a kromě toho je dalším důvodem konzumace nemléčných výrobků i současné odlišné způsoby života (veganství, vegetariánství) [23].

Vodní kefir představuje významný zdroj probiotických mikroorganismů mezi výrobky, které nejsou na živočišné bázi. Jeho konzumace v posledních letech právě díky tomuto benefitu značně roste. Další jeho výhodou jsou jeho senzorické vlastnosti [23,24].

Země, kde se nejvíce konzumuje vodní kefir jsou Spojené státy Americké, Velká Británie, Mexiko, Japonsko, Thajsko, Malajsie, Francie, Turecko, Řecko, Rumunsko, Rusko, Norsko, Švédsko, Španělsko, Chile, Portugalsko, Peru nebo třeba Argentina [23].

V každé zemi se tento nápoj uvádí do oběhu pod jiným názvem. V Německu se vodní kefir nazývá „Piltz“, a v Itálii „Kefir di Fruttai“. V Japonsku, odkud tento nápoj s největší pravděpodobností pochází, se nazývá „Tibicos“ neboli „Tibi“ („japonské vodní krystaly“). V Mexiku se připravuje fermentovaný nápoj „Tepache“, který je složen z ananasu, hnědého cukru a skořice [23].

Vodní kefir představuje mírně perlivý, lehce sladkokyselý osvěžující fermentovaný nápoj. Připravuje se kvašením sacharóзовého roztoku nebo ovocných a zeleninových složek s obsahem cukru pomocí kefirových zrn. Má podobné, ale zároveň i odlišné vlastnosti od mléčného kefiru [24].

### 2.1 Historie vodního kefiru

Historický původ vodního kefiru není dobře znám, ale předpokládá se, že vojáci z Kymské války dávali kefirová zrna do zázvorového piva [23]. Roku 1855 definoval tyto zrna zřejmě jako úplně první Ward, a to jako mírně sycený nápoj, který obsahuje symbiotickou směs kvasinek a bakterií s dostatečným množstvím dusíkatých organických látek a třtinového nebo řepného cukru [25].

Kde a kdy kefirová zrna přesně vznikla není doposud jasné. Jako nejpravděpodobnější místo původu se spekuluje o Mexiku, a to právě kvůli zachovalým záznamům kultury Tibicos, která vytváří tvrdá zrna obnovitelná v cukrové vodě na povrchu kaktusu Opuntia. Tato zrna se nazývala „tibico“ a používala se ve fermentovaných nápojích vyráběných z cukrové šťávy

právě z tohoto kaktusu na konci 19. století. Ve Francii byl termín vodního kefiru použit pro zrna oddělená od zrn kefiru mléčného [23].

## 2.2 Základní informace

Vodní kefir je vyráběn z mikrobiální kultury „tibi“ [26]. Zrna vodního kefiru mohou být po fermentaci obnovena a znovu použita pro další výrobu nápoje. Velice podobný vodnímu kefiru je i kefir mléčný. Oba produkty se vyrábějí z různých jedinečných zrn, konkrétně pod názvem mléčná kefirová zrna nebo vodní kefirová zrna, která obsahují probiotika, ale jejich složení je poněkud odlišné. Rozdílné jsou i fyzikální a chemické vlastnosti i mikrobiologické složení [27,28].

Pro přípravu nápoje jsou vyžadována zrna vodního kefiru, ta následně fermentují ve vodě, která musí obsahovat kvůli růstu mikroorganismů zkvasitelné sacharidy. Cukerný roztok lze ovšem nahradit ovocnou nebo zeleninovou šťávou. Tato zrna se dají pořídit ve dvou odlišných formách jako „Tibi“ krystaly, což jsou živé mikroorganismy a jejich údržba je náročnější. Druhou variantou je sušený prášek, který nevyžaduje příliš velkou péči, pouze správné uchování, a k jeho aktivaci dojde přidáním vody a určitého množství cukru [27].

Vodní kefir neobsahuje kofein ani tein. Proto jej mohou konzumovat lidé, kteří jsou na tyto stimulanty citliví. Pro svou svěží chuť se hodí na přípravu limonád. Díky tomu, že neobsahuje mléčnou složku ho mohou konzumovat i vegani nebo lidé trpící alergií na mléčnou bílkovinu či intolerancí na laktózu [28].

### 2.2.1 Zrna vodního kefiru

Abychom mohli připravit nápoj, vodní kefir, potřebujeme k tomu zrna vodního kefiru a cukerný roztok. Granule svou konzistencí připomínají konzistenci želatiny. Zrna vodního kefiru mají barvu průsvitnou až našedlou, ale lze ji upravit kapalinou, ve které vodní kefir fermentuje. Jestliže budou kvasit například v jahodové ovocné šťávě zrna budou mít barvu růžovou až červenou, pokud v mrkvové šťávě, barva bude oranžová [29].

Konzistence je voskovitá a tužší a jejich povrch je hladký, bez viditelných podjednotkových granulí. Vzhled by se dal přirovnat ke kamenné soli. Průměr velikosti jednoho kefirového zrna se pohybuje od několika milimetrů až po jeden centimetr (1–10 mm) [27].

Skladování zrn v mrazech při teplotě pod -20 °C a jejich následné rozmrazení není vhodné z důvodu nenapravitelného poškození zrna, jelikož obsahují až 86 % vody. Negativní dopad

na růst zrn má demineralizovaná voda, protože má nízkou pufrací kapacitu a neobsahuje žádné ionty [25].

### 2.3 Složení

Proces fermentace je závislý na spotřebě cukru, a proto je ho ve výsledné verzi nápoje velmi málo. Vodní kefir se skládá z enzymů, bakterií i kvasinek a zdravích prospěšných kyselin. Zdánilivě se podobá kombuše, jen má na rozdíl od ní větší množství bakterií než kvasinek a chuť není tak „octová“, jako chuť kombuchy. V obou nápojích procesem kvašení vzniká i velmi malé množství alkoholu. V případě čerstvě vyrobeného vodního kefiru, by mělo množství odpovídat nealkoholickému nápoji, který je legislativně dán do 0,5 objemových % alkoholu. Při déle trvající fermentaci nebo dlouhodobějšímu skladování obsah alkoholu narůstá, a to až na 1,5 %. [28] Následně hladina ethanolu klesá, jelikož je při kvašení přeměňován bakteriemi na kyselinu octovou. Dále při tomto procesu vzniká kyselina mléčná, která se v nápoji může nacházet až ze dvou procent [25].

V zrnech vodního kefiru se nachází dextranová matrice, která je tvořena  $\alpha$  - D - (1  $\rightarrow$  6) - vázanými glukopyranosylovými zbytky s (1  $\rightarrow$  3) - vázanými postranními řetězci. Za vytvoření této struktury jsou zodpovědné *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus nagelii*, *Lactobacillus hordei* a *Lactobacillus hilgardii* [27].

Zrna vodního kefiru nemohou růst v mléce, a to kvůli tomu, že *L. hilgardii* neumí metabolizovat cukr laktózu, a proto se nevytváří základní polysacharidy pro zvýšení biomasy [30].

Po fermentaci nápoj obsahuje kromě zbytkového cukru a kyseliny mléčné i kyselinu octovou, malé množství ethanolu, oxid uhličitý (ten způsobuje jemnou perlivost nápoje), manitol, vitamíny (hlavně vitamíny skupiny B), aminokyseliny, glycerol nebo estery. Dále jsou v nápoji obsaženy i polysacharidy glukany nebo levany, které jsou produkovány mikroorganismy. Tyto mikroorganismy, když se ve vodním kefiru množí, dochází k syntéze právě zmiňovaných polysacharidů zejména glukanu a ke zvyšování biomasy zrna [25].

Nápoj z vodního kefiru neobsahuje kofein ani tein na rozdíl od kombuchy, protože není vyráběn z čaje ani z komponentů, které by tyto látky mohly obsahovat. Z tohoto důvodu jej mohou konzumovat lidé, kteří jsou náchylnější a citlivější na vliv kofeinu nebo menší děti [28].

## 2.4 Výroba

Vodní kefir je přírodně fermentovaný nápoj [29]. Má podobné, ale i odlišné vlastnosti od mléčného kefiru [23]. Lze jej získat při anaerobním kvašení, což je fermentace bez přístupu vzdušného kyslíku, vody, cukru, popřípadě ovoce nebo zeleniny, do kterých byla zaočkována kefirová zrna. Fermentační proces probíhá dva až čtyři dny [29].

V praxi se využívá voda pasterovaná a chlazená. Aby v ní mohla zrna fermentovat, je potřeba přidat optimální množství cukru, což je zhruba 10 % (rozmezí se pohybuje od 6 % do 30 %), který představuje hlavní zdroj uhlíku. Zdroj dusíku zajistíme přidáním sušeného ovoce. Když se místo cukru zvolí ovoce, je třeba brát v potaz jeho způsob zpracování, zda neobsahuje konzervační látky a jiné mikroorganismy, které by mohli vodní kefir kontaminovat [29]. Dále se přidá 6–20 hmotnostních % kefirových zrn a nechá se fermentovat v tmavém prostředí [25]. Jakmile fermentace proběhne, což se pozná podle toho, že se v nápoji objeví bublinky CO<sub>2</sub>, které jsou důsledkem činnosti mikroorganismů, tak se zrna od tekuté složky oddělí pomocí filtrace. Doba kvašení se pohybuje v rozmezí 24–72 hodin. Přefiltrovat můžeme buď přes čisté sítko nebo cedník. Následně se zrna důkladně propláchnou a uchovávají v chladu k následnému zaočkování [23]. Zrna lze opakovaně používat pro další proces fermentace [29].

Fermentace většinou probíhá při teplotě 25–30 °C, po ní se nápoj ponechá dva až tři dny v klidu a v chladu přibližně okolo 4 °C, kde jej lze až dvacet dnů skladovat [23].

Mezi důležité mikroorganismy hrajících roli při fermentaci jsou hlavně bakterie mléčného kvašení a to: *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus hilgardii* a *Lactobacillus nagelii*, bakterie rodu *Zymomonas* a kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae* [29].

Při výrobě nápoje vodního kefiru lze použít i výrobní postup známý pod názvem „black-slopping“, což znamená, že se při nové fermentaci přidá část dříve zkvašeného nápoje se zrny nebo bez [25].

## 2.5 Legislativa vodního kefiru

Na světovém trhu není k dostání příliš velký výběr vodního kefiru, stále spíše převládá domácí vodní kefir, a proto ve většině zemích není zařazen do potravinářské legislativy. Prodává se jako „tradiční nápoj“. V uplynulých letech se však začala více řešit regulace týkající se probiotických kmenů, tím pádem i vodní kefir, a proto se stalo nezbytným jej do potravinářské legislativy zařadit [25].

Úřad FDA (Food and Drug Administration – Úřad pro kontrolu potravin a léků) má za to, že by mohl vodní kefir poskytovat rostlinnou náhradu mléka [33]. Dle dosavadních studií by měl být vodní kefir zařazen do kategorie nealkoholických nápojů [31].

## 2.6 Zdravotní účinky

Po pandemii covidu, která začala koncem roku 2019, se začal výrazněji řešit imunitní systém a jak jej lze ovlivnit a posílit. I když je geneticky vrozen a ovlivněn stravovacími návyky nebo prostředím, ve kterém daný jedinec vyrůstá, dá se do jisté míry posílit. V poslední době se tímto tématem zabývá několik studií. Jednou z nich je vliv konzumace funkčních potravin na zdraví člověka, které se nezařazují mezi léky nebo doplňky stravy [30].

Mezi funkční potraviny se řadí i kefir, který se stal velice rozšířeným. Většina studií se zabývá spíše mléčným kefirem, ale studie zabývající se kefirem vodním potvrzují přítomnost velkého množství probiotických látek [25,32].

Možné zdraví prospěšné vlastnosti ovšem závisí na různých parametrech. Mohou být ovlivňovány způsobem a dobou fermentace, množstvím zbytkového cukru, druhem substrátu nebo teplotě při fermentaci či skladováním. Většina příznivých účinků na zdraví však souvisí s laktobacily a kvasinkami, ovšem existuje pouze malé množství studií, které se vlivem vodního kefiru na zdraví, zabývají. Jelikož se každý kefir vyrábí odlišně je více než pravděpodobné, že jeho složení a tím pádem i vliv na zdraví jedince bude odlišný [25,30].

### 2.6.1 Bifidobakterie

Nejvíce zdraví prospěšné vlastnosti jsou spojovány s probiotickými mikroorganismy, zejména s *Bifidobacterium psychraerophilum* nebo *crudilactis*. Bifidobakterie jsou anaerobní bakterie (rostou bez přítomnosti kyslíku) schopné produkovat větší množství acetátu než laktátu. Proto následně může docházet v těle k mírnému navýšení metabolické aktivity. Navíc jsou tyto bakterie považovány za nejvíce přínosné probiotické mikroorganismy se schopností podporovat imunitní systém [25].

### 2.6.2 Probiotické mikroorganismy

Funkční vlastnosti probiotických mikroorganismů přímo úměrně souvisí se zkonsumovaným množstvím vodního kefiru. Mohou mít pozitivní vliv na imunitu, působí protizánětlivě, mají antihyperglykemické i antihyperlipidemické nebo antioxidační účinky [25].



Podle definice FAO/WHO jsou probiotika „živé mikroorganismy, které při jejich podávání v přiměřeném množství přinášejí hostiteli zdravotní prospěch“ (FAO/WHO, 2002). V této definici je kladen důraz na to, že zdravotní přínos souvisí právě s množstvím, jaký spotřebitel zkonsumuje. Uvádí se jako CFU (Colony forming unit) na dávku, což je adekvátní množství živých mikroorganismů v přijímaném preparátu. Probiotika mají velmi kladný vliv na imunitu a trávicí trakt [31].

Jedno z kritérií pro probiotika je, že mají prokazatelně příznivý účinek na hostitele, nesmí být patogenní a jsou schopny přežít průchod trávicím traktem. Dále musí být citlivá na antibiotika a schopná přilnout na slizniční povrch. Narozdíl prebiotika jsou nestravitelná, ale jejich příznivý účinek spočívá v tom, že stimulují růst bakterií v tlustém střevě [35].

## 2.7 Rozdíl mezi mléčným a vodním kefirem

Ze zrn kefirů, které obsahují probiotika se vyrábí mléčný nebo vodní kefir. Oba tyto nápoje se vyrábí z odlišných granulí. Mléčný kefir se získává fermentací z mléčného kefirového zrna s mlékem a vodní kefir z vodního kefirového zrna s vodním roztokem, který musí obsahovat cukerný roztok, a to buď ve formě cukru s vodou nebo ovocné či zeleninové šťávy [27].

Vzhled zrn je rozeznatelný na první pohled, jak lze vidět na obrázku číslo 1. Mléčné kefirové zrno je drobnější, jeho tvar je ve tvaru granulí a barva je spíše bílá až krémová a není ovlivněna mléčným substrátem. Konzistence zrn je měkká a na povrchu zrna jsou viditelné menší, dílčí granulky, které pak svým vzhledem připomínají například popcorn. Zrna vodního kefiru mají barvu spíše průsvitnou až našedlou a lze je upravit kapalinou, ve které fermentuje jako je např. barva ovocné nebo zeleninové složky. Konzistence je voskovitá a tužší a jejich povrch je hladký, bez viditelných podjednotkových granulí. Vzhled by se dal přirovnat ke kamenné soli [27,29]. Průměr mléčného zrna je 0,1 – 0,2 cm, kdežto zrna vodního kefiru jsou v milimetrech a mohou mít až centimetry. Zrno mléčného kefiru se skládá z 86 % vody a 14 % sušina, ta obsahuje 58 % polysacharidů, 30 % bílkovin a 7 % tuku, u vodního zrna toto složení není přesně známo [27].

Oba nápoje jsou fermentované a po ukončení fermentace je lze znovu využít při výrobě dalšího nápoje, ale mají různé fyzikální, chemické i mikrobiologické vlastnosti. Vodní kefir představuje důležitý zdroj probiotik, prebiotik a antioxidantů, a to hlavně pro vegany, alergiky nebo osoby trpící intolerancí na mléčné výrobky. Mléčný kefir představuje zase na rozdíl od vodního kefiru značné množství bílkovin. Probiotika i prebiotika nabízí oba druhy kefiru [27].



Obrázek 1 - Vzhled zrn mléčného a vodního kefiru Fotografie Tugce Dagtekin a Zeynep Guzel Seydim

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 CÍL PRÁCE

Záměrem této práce bylo zjistit, jak mohou vybrané parametry ovlivnit průběh fermentace modelových systémů, které obsahují sacharidy. Poté následovalo posouzení nejvýhodnější koncentrace a druhu sacharidu, při které nápoj fermentuje nejoptimálněji. Zvolenými sacharidy byly dextróza – monosacharid a sacharóza – disacharid.

## 4 METODIKA PRÁCE

Níže v podkapitolách jsou uvedeny využívané suroviny k výrobě a přístroje k měření základních vzorků. Byly vytvořené modelové vzorky, u kterých konkrétně byly zjišťovány hodnoty pH, TDS (= Total dissolved solids / obsah rozpuštěných pevných látek) refraktometrické sušiny, ethanolu a hustoty na začátku, v průběhu a na konci fermentace. Zkoumalo se jaký měla vliv na fermentaci úprava pH vzorku po přidání 0,1% kyseliny citronové. Všechna měření modelových systémů byla prováděna třikrát. Vzorky s roztokem sacharózy i dextrózy byly měřeny pět po sobě jdoucích dní po 24 hodinách. Fermentace probíhala při 30 °C.

### 4.1 Využívaný materiál a metody stanovení

Pro získání výsledků bylo třeba připravit několik modelových vzorků. Specificky se připravovalo 12 vzorků, z toho bude každý připraven o jiné koncentraci a z jiného druhu cukru (sacharózy a dextrózy). Koncentrace roztoků obou cukrů bylo 5 %, 10 % a 15 %.

#### 4.1.1 Použité suroviny

- Dextróza (IV HOME BREWERY, Šenovská 1, 736 01, Havířov),
- Sacharóza (Cukrovar Vrbátky a.s., Vrbátky 65, 798 13, Vrbátky),
- Lyofilizovaná kultura vodního kefiru WUGI (UNIBIOM s.r.o., Smetanovo nábřeží 956/6, 690 02 Břeclav, Česká republika, vyrobeno v EU),
- Kyselina citronová (Dr. Oetker, spol. s r.o., Americká 2335, 272 01, Kladno)

#### 4.1.2 Použité přístroje

- Alcolyzer Plus Anton Paar (Anton Paar GmbH, Rakousko)
- pH meter Foodcare HI 99161 (Hanna Instruments, USA)
- Digital refractometer Kern ORF 45BE (Kern & Sohn GmbH, Německo)
- Konduktometr CyberScan CON 110 (Eutech Instruments, Thermo Scientific, USA)

### 4.2 Příprava modelových vzorků

Pro výrobu modelových vzorků byly použity sacharidy dextróza a sacharóza. Byly vyrobeny roztoky s odlišnou koncentrací sacharidů dextrózy a následně i sacharózy. Do těchto roztoků

se zaočkoval zákys vodního kefiru. Procentuální množství lze vidět v tabulce číslo 1 a 2. Do vybraných vzorků s odlišnou koncentrací cukrů se přidávala kyselina citronová o koncentraci 0,1% kvůli úpravě pH na výslednou hodnotu 5. Vznikly tak modelové vzorky s úpravou pH a bez úpravy.

#### 4.2.1 Výroba zákysu vodního kefiru

Aby mohly být připraveny modelové vzorky, musel se nejdříve nachystat zákys. Do vzorku se totiž nepřidávala čistá lyofilizovaná kultura vodního kefiru.

Pro vytvoření vodního zákysu se využívala lyofilizovaná kultura WUGI, jejíž nutriční hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce.

Složení lyofilizované kultury WUGI: hnědý cukr jako nosič kultur, kefirové kultury (mikroorganismy z rodů: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Saccharomyces*, *Acetobacter*, *Kluyveromyces*).

Výrobce: UNIBIOM s.r.o., Smetanovo nábřeží 956/6, 690 02 Břeclav, Česká republika, vyrobeno v EU

Postup výroby byl následující. Do jednoho litru 15% roztoku sacharózy bylo přidáno 5 gramů lyofilizované kultury WUGI. Tento mateční zákys se nechal fermentovat 72 hodin při 35 °C. Z takto připraveného vodního kefiru se odebíralo do každého vzorku aktivní inokulum. Každý ze dvanácti modelových vzorků obsahoval na 400 ml 10 % zákysu, což odpovídá 40 ml zákysu.

#### 4.2.2 Příprava modelových vzorků

Připravovalo se 12 modelových vzorků 400 ml vodního kefiru po dvou sadách. Sada první obsahovala dvakrát tři různé koncentrace roztoku sacharózy, sada druhá se skládala z dvakrát tří různých koncentrací roztoku dextrózy. Modelové vzorky se očkowały již aktivním zákysem, aby výsledná koncentrace byla 10% odpovídající celkovému objemu vzorku, což odpovídalo 40 ml. Následná fermentace všech modelových vzorků se uskutečnila při teplotě 30 °C a probíhala pět dní, přičemž se všechny vzorky po 24 hodinách vytáhly z termostatu a změřily potřebné hodnoty, následně se vrátily zpět. Množství jednotlivých sacharidů, zákysu, vody, popř. kyseliny citronové jsou uvedena v % v tabulce číslo 1 a 2.

Tabulka 1 - příprava jednotlivých vzorků sacharózy

	Zákys (%)	Sacharóza(%)	Voda (%)	Kyseliny citronová (ml)
sacharóza 5%	10	5	85	
sacharóza 5% + k. citronová	10	5	85	0,2
sacharóza 10%	10	10	80	
sacharóza 10% + k. citronová	10	10	80	0,2
sacharóza 15%	10	15	75	
sacharóza 15% + k. citronová	10	15	75	0,2

Tabulka 2 - příprava jednotlivých vzorků dextrózy

	Zákys (%)	Dextróza (%)	Voda (%)	Kyseliny citronová (ml)
dextróza 5%	10	5	85	
dextróza 5% + k. citronová	10	5	85	0,2
dextróza 10%	10	10	80	
dextróza 10% + k. citronová	10	10	80	0,2
dextróza 15%	10	15	75	
dextróza 15% + k. citronová	10	15	75	0,2

### 4.3 Fyzikálně chemická analýza

Ze všech připravených modelových vzorků byla každý den odebrána část (cca 40 ml) pro fyzikálně chemickou analýzu. Zkoumanými vlastnostmi byly změny množství ethanolu, hustoty, pH, TDS a refraktometrické sušiny. Měření se provádělo pět dní po 24 hodinách. Měření ethanolu a hustoty se provádělo vždy každý den dvakrát, ostatní analýzy se prováděly v daný den třikrát. Každé měření bylo prováděno za laboratorní teploty, která odpovídala cca 20°C.

#### 4.3.1 Ethanol

Stanovování množství ethanolu bylo prováděno na přístroji Alcoalyzer Anton PAAR, který umožňuje stanovení alkoholu například v pivě, víně nebo v lihovinách, a to bez jakéhokoliv ovlivňování dalšími složkami přítomných v měřeném vzorku. Množství ethanolu je zjišťováno přístrojem pomocí selektivní absorpční metody [37].

Při NIR (Near-infrared) spektrometrii není nutná příliš velká příprava vzorku. Je levná a poměrně rychlá [38].

Kalibrace je také jednoduchá, a to pomocí vestavěného systému, který kalibraci provádí automaticky s vodou a roztokem [37]. Každé měření jednotlivých vzorků bylo provedeno dvakrát při teplotě cca 20°C.

#### 4.3.2 Hustota

Hustota určuje vztahy mezi objemy a hmotnostmi určitých látek a řadí se mezi fyzikální veličiny [39].

Na měření hustoty byl využitý přístroj Density meter DMA 4500 Anton PAAR (Anton Paar GmbH, Rakousko). Anton Paar dokáže měřit hustotu i ethanol dohromady, proto se po jednom měření získaly hodnoty množství alkoholu (%) a naměřené hustoty ( $\text{kg/m}^3$ ). Každé měření jednotlivých vzorků bylo provedeno dvakrát při teplotě cca 20°C.

#### 4.3.3 pH

Pro stanovení pH se využíval přístroj pH metr Foodcare HI 99161, který se před samotným měření zkalibroval pomocí destilované vody a pufrů. Každé měření jednotlivých vzorků bylo uděláno třikrát při teplotě cca 20°C.



Potential of hydrogen (pH) je definováno jako záporná dekadický logaritmus pro koncentraci vodíkových iontů. V podstatě se jedná o odlišné vyjádření molární koncentrace iontů vodíku nacházejících se ve vzorku [40].

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$$

pH je ukazatelem kyselosti nebo zásaditosti roztoku, jedná se o číselnou hodnotu ležící na číselné škále 0–14. Nejdůležitějším číslem této stupnice je 7, neutrální roztok. Hodnoty nižší ukazují na rostoucí kyselost a hodnoty vyšší znamenají stoupající zásaditost. [41].

#### 4.3.4 TDS

Měření TDS bylo prováděno pomocí přístroje Konduktometr CyberScan CON 110 (Eutech Instruments, Thermo Scientific, USA). Kalibrace přístroje byla provedena pomocí destilované vody. Každé měření jednotlivých vzorků bylo provedeno třikrát při teplotě cca 20°C.

TDS (Total Dissolved Solids) bývá využíváno pro zjištění veškerých rozpuštěných částic organického nebo anorganického původu ve kapalném vzorku. Naměřená hodnota se uvádí v jednotkách ppm (parts per milion – částice na jeden milion) [42].

#### 4.3.5 Refraktometrická sušina

Stanovení refraktometrické sušiny se provádělo na digitálním refraktometru Kern ORF 45BE (Kern & Sohn GmbH, Německo). Před začátkem měření proběhla kalibrace pomocí destilované vody. Každé měření jednotlivých vzorků bylo provedeno třikrát při teplotě cca 20 °C.

Jednotka refraktometrické sušiny je stupnice Brix [°Bx], která udává vzájemný poměr množství sacharózy k množství vody, kde je cukr rozpuštěn [43, 44].

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Níže v textu jsou uvedeny výsledky změn ethanolu, hustoty, pH, TDS a refraktometrické sušiny. Všechny výsledky jsou pro lepší přehled a orientaci uvedeny v grafech. Jednotlivá měření byla prováděna po 24 hodinách pět po sobě jdoucích dní při laboratorní teplotě  $20 \pm 2$  °C.

### 5.1 Změna množství ethanolu

V symbiotické kultuře, která je využívána pro výrobu nápoje vodního kefiru se mohou nacházet kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae*, které fermentují sacharidy a vytváří ethanol a CO<sub>2</sub>. Přestože se vodní kefir řadí mezi nealkoholické nápoje, obsahuje malé množství ethanolu [45].

Dle vyhlášky vyhlášky č. 248/2018 Sb. - Vyhláška o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí jsou nápoje řazeny do nealkoholických s obsahem maximálně 0,5 objemových % ethanolu. Nízkoalkoholické nápoje jsou ty, u kterých obsah ethanolu nepřevyšuje 1,2 objemových % ethanolu. Mezi alkoholické nápoje lze zařadit ty, kde jsou objemová procenta ethanolu vyšší než 1,2 % [46].

Fermentaci vodního kefiru ovlivňuje několik faktorů jako je množství „matečného zákysu“, zvolená koncentrace sacharidového roztoku, teplota, dostupnost živin a doba fermentace [47].

Dle několika vědeckých článků [26, 29, 47, 48] vodní kefir velmi dobře fermentuje v přítomnosti fíků, popř jiných druhů ovoce a zeleniny než při samotné sacharóze. Bez přítomnosti ovocné nebo zeleninové složky dochází ke zpomalenému příjmu glukózy, a tím i k pomalejší rychlosti kvašení [48], což jde znát na výsledné tvorbě ethanolu na obrázcích 2 a 3.

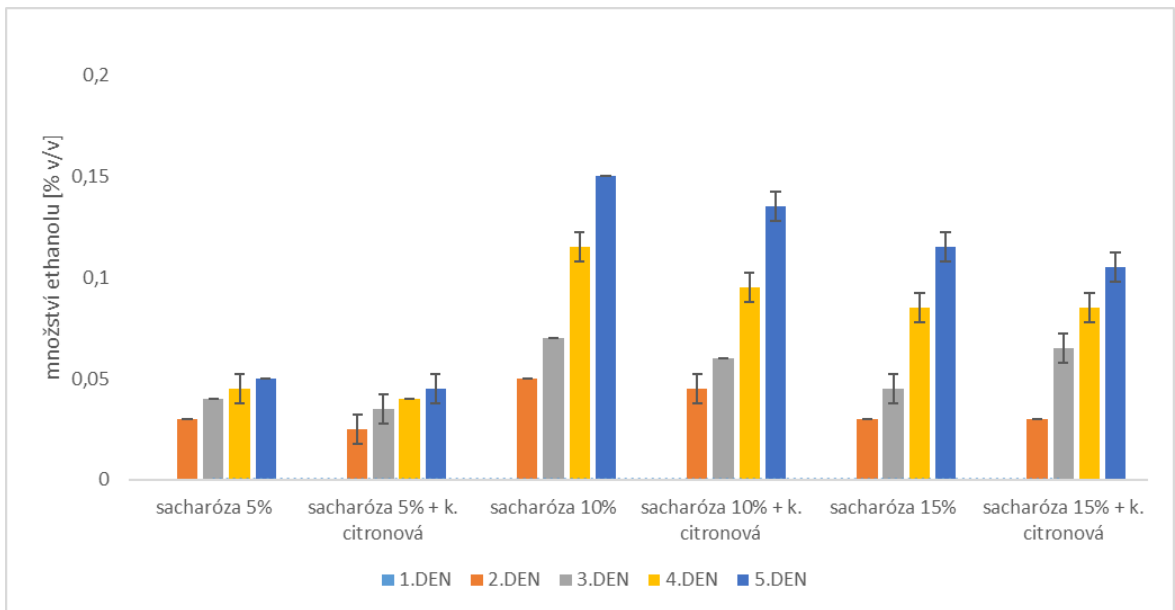
Zároveň dochází při fermentaci ke zvyšování a pozvolnému nárustu množství ethanolu. Produkce ethanolu je však možná pouze do té doby, je-li ve vzorku dostatečné množství zdroje energie, substrátu. Při vyčerpání zásob sacharidů nemůže fermentace dále pokračovat [47].

Množství ethanolu nemůže neustále narůstat, jelikož se ve velkých koncentracích stává pro mikroorganismy toxický. Proto je jeho produkce omezená. Při jeho vysokých koncentracích nastává inhibice aktivity kvasinek i bakterií, poté následně k usmrcení těchto mikroorganismů [49].

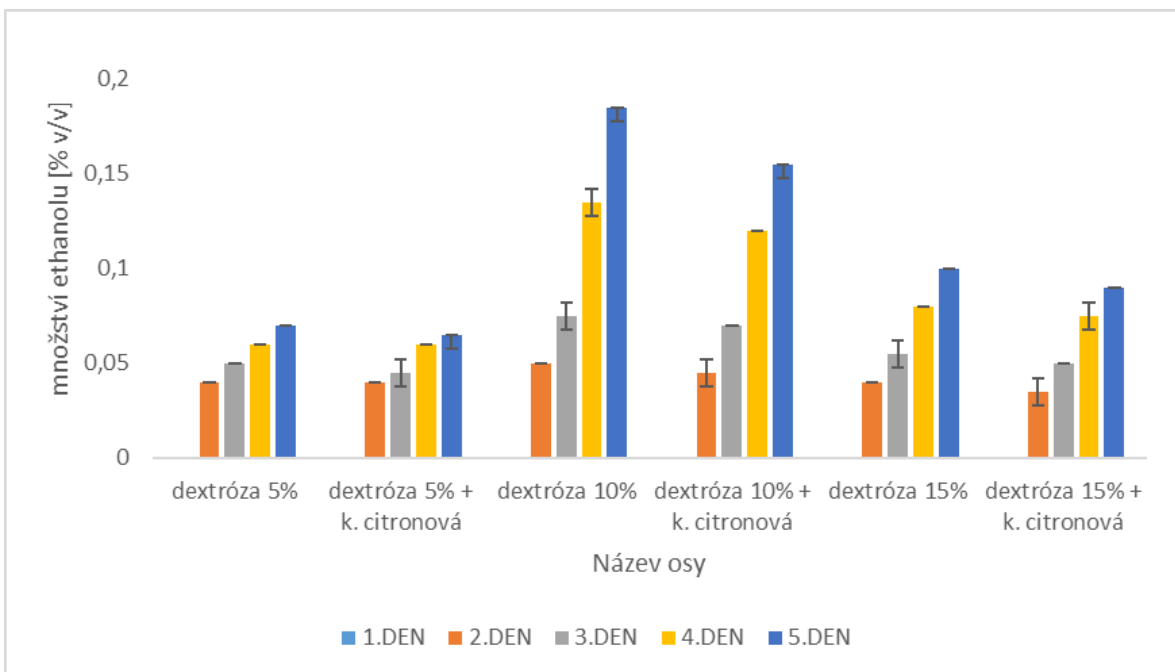
První den, kdy byly vzorky připravovány, byly změřené hodnoty ethanolu u všech modelových vzorků rovny nule, jelikož nápoj vodní kefir ještě nezačal příliš fermentovat. Následující den byl pozorován menší nárůst ethanolu u všech vzorků. Největší nárůst ethanolu byl zaznamenán u 10% roztoku sacharózy a ještě 10% roztoku dextrózy bez úprav pH. Ethanol je přirozeným produktem u fermentace. Když fermentace začíná probíhat, je hlavním produktem ethanol a oxid uhličitý. Následně je ethanol přeměňován na organické kyseliny, a to hlavně díky bakteriím rodu *Lactobacillus* [50].

Na obrázku číslo 2 lze vidět pátý den, kde došlo k největšímu nárůstu ethanolu o 0,15 % u modelového vzorku 10% roztoku sacharózy bez úpravy pH. Na následujícím obrázku číslo 3 se pátý den obsah ethanolu zvedl o téměř 0,2 % ve vzorku 10% roztoku dextrózy bez úpravy pH. K většímu nárůstu ethanolu došlo u dextrózy, protože se jedná o monosacharid a pro kvasinky je lépe a rychleji využitelný jako zdroj pro fermentaci a následnou tvorbu ethanolu. U sacharózy k nárůstu ethanolu dochází pomaleji právě kvůli tomu, že ji musí mikroorganismy nejdříve rozložit na glukózu a fruktózu [45].

Ze všech zkoumaných modelových vzorků dle naměřených výsledků docházelo k největším změnám hodnot u 10% roztoku dextrózy bez úpravy pH. Je to kvůli tomu, že se dextróza řadí mezi monosacharidy neboli jednoduché sacharidy. Ve vodním kefiru jsou obsažené kvasinky (*Saccharomyces cerevisiae*), které mají zavedené metabolické cesty pro fermentaci cukrů, a tím, že se dextróza řadí mezi jednoduché monosacharidy, probíhá kvašení snadněji a rychleji než u sacharózy. Sacharóza se zase řadí mezi disacharidy, skládá se z jednoduchých cukrů glukózy a fruktózy, na které je musí před samotnou fermentací kvasinky rozložit, což může vést k pomalejší fermentaci [45,51].



Obrázek 2 - Naměřené množství ethanolu u vzorků s roztokem sacharózy



Obrázek 3 - Naměřené množství ethanolu u vzorků s roztokem dextrózy

## 5.2 Výsledky změny hustoty

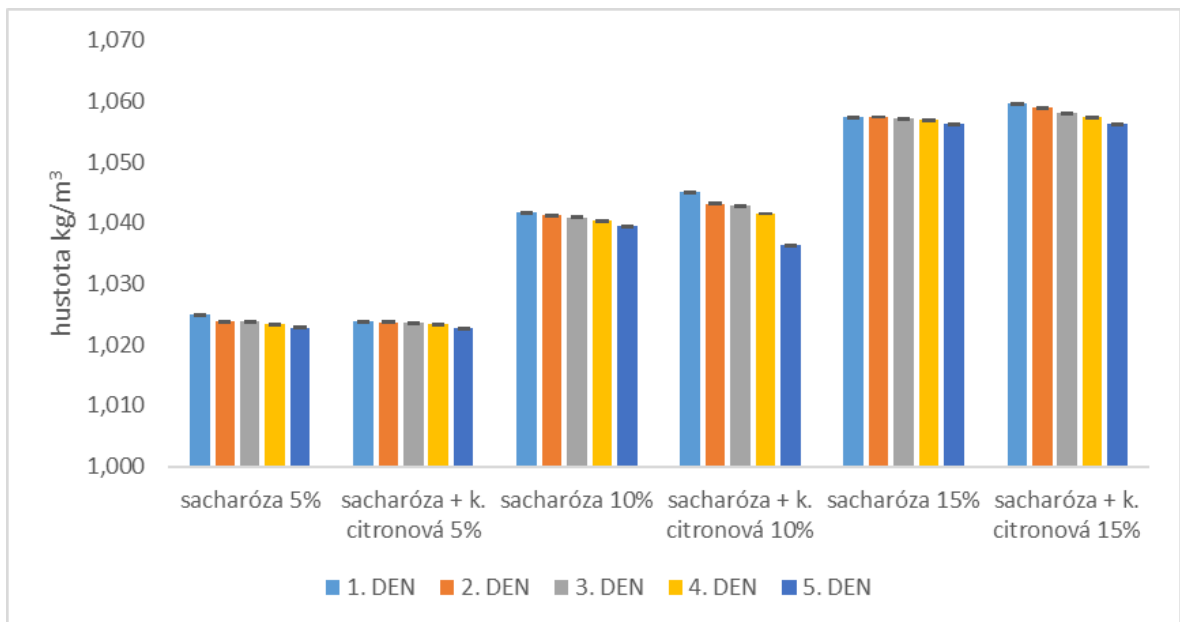
Počáteční hustota přímo souvisí s množstvím složek, které se na začátku ve vzorku nachází. Během procesu fermentace je důležitý zdroj uhlíku a energie. Tyto zdroje mají vliv na různé druhy mikroorganismů a jejich množství, a také na výslednou koncentraci produktů [47].

Jelikož v průběhu fermentace dochází ke spotřebě sacharidů a k tvorbě ethanolu a oxidu uhličitého a dalších látek, snižuje se i výsledná hustota z důvodu vzniklých produktů o nižší hustotě než voda. [47].

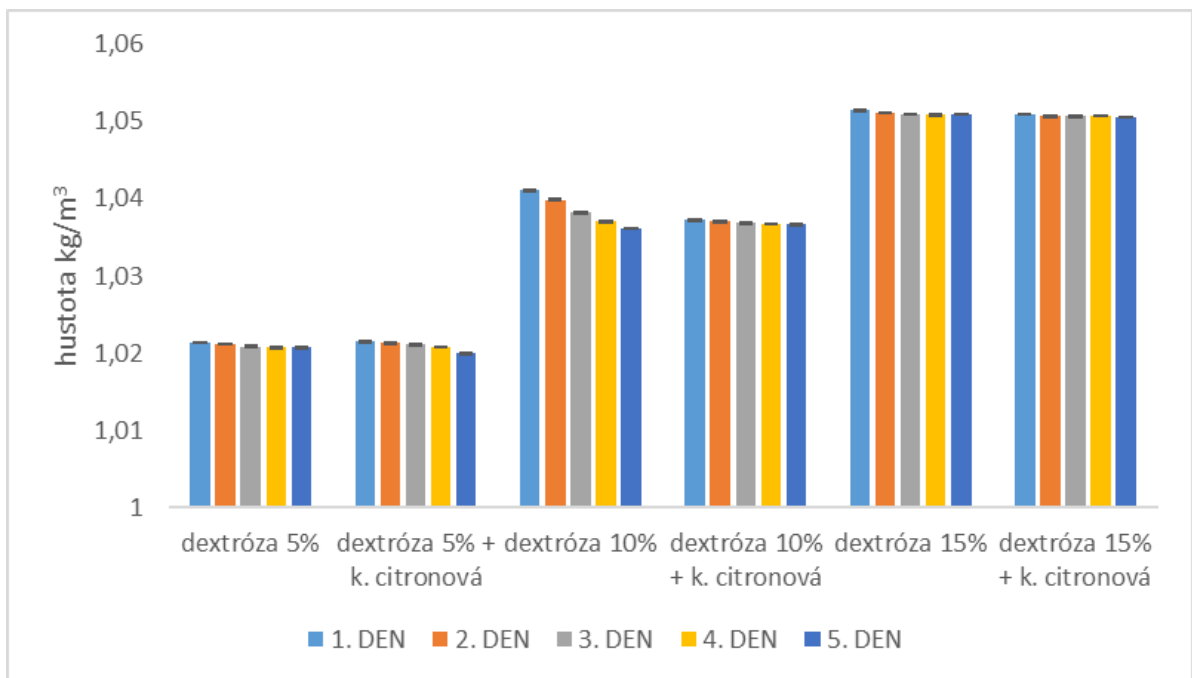
Při procesu fermentace se výchozí látky (sacharidy) mění na produkty. Tím, že dochází ke spotřebě sacharidů a přeměně na jiné organické látky, dochází ke snižování výsledné hustoty. Dalším produktem je oxid uhličitý. Jelikož se jedná o plyn, je uvolňován do okolního prostředí [52].

Při měření hustoty nedocházelo k velmi výraznému poklesu, mohlo to být způsobené tím, že se vzorky neměřily déle jak pět dní. Největší hustotu měl dle obrázku číslo 4 roztok s 15% sacharózou s úpravou pH, naopak nejmenší hustotu měl vzorek 5% roztoku sacharózy bez úpravy pH. Největší pokles hustoty během pěti dnů je docela patrný u roztoku s 10% dextrózou a úpravou pH.

Na obrázku číslo 5 lze vidět velmi podobné hustoty roztoků dextrózy jako u roztoků sacharózy. Také je největší naměřená hustota u roztoku s 15% dextrózou s i bez úpravy pH a nejmenší u 5% roztoků. Ovšem největší pokles je znatelný u roztoku 10% dextrózy bez úpravy pH.



Obrázek 4 - Naměřená hustota u vzorků s roztokem sacharózy



Obrázek 5 - Naměřená hustota u vzorků s roztokem dextrózy

### 5.3 Výsledky změny pH

V průběhu fermentace ve vodním kefiru dochází ke vzniku ethanolu, kyseliny mléčné a kyseliny octové. Bakterie octového kvašení přeměňují ethanol oxidační reakcí na kyselinu octovou. To má za následek pokles pH, jelikož vznikající kyseliny mají výrazně nižší pH než cukerné roztoky. Výsledné pH závisí na množství vzniklých organických kyselin. Při tvorbě většího množství kyselin bude konečné pH nižší [48].

Jelikož pro výrobu nápojů vodního kefiru byla využívána demineralizovaná voda, která má nízkou pufrční schopnost z důvodu nepřítomnosti iontů, je pro tento roztok těžší si udržet stabilní pH, a tak dochází v průběhu fermentace k poklesu pH [25, 48].

Zrna vodního kefiru jsou však poměrně dobře adaptabilní k různým zdrojům energie a prostředí [53].

K poklesu pH dochází při správném průběhu fermentace. Právě při ní totiž vznikají jako vedlejší produkt kromě ethanolu a oxidu uhličitého i organické kyseliny a aldehydy, které mají vliv na snížení hodnoty pH. Při nadměrné produkci a hromadění těchto vedlejších produktů dochází k nepříznivým vlivům na kvasinky a bakterie nacházející se ve vodním kefiru [54].

Na obrázku 6 a 7 jde vidět, že u vzorků, ke kterým se přidávala kyselina citronová pro úpravu pH jsou všechny roztoky cukrů, kde byla tato úprava prováděna rovny 5. K největšímu poklesu pH u cukerných roztoků docházelo, když bylo počáteční pH upraveno na 5.

K nejvýraznějšímu poklesu pH došlo u roztoků 10% sacharózy s úpravou pH jak napovídá obrázek číslo 6. Naopak k nejmenšímu poklesu došlo u roztoků 5% sacharózy bez úpravy pH.

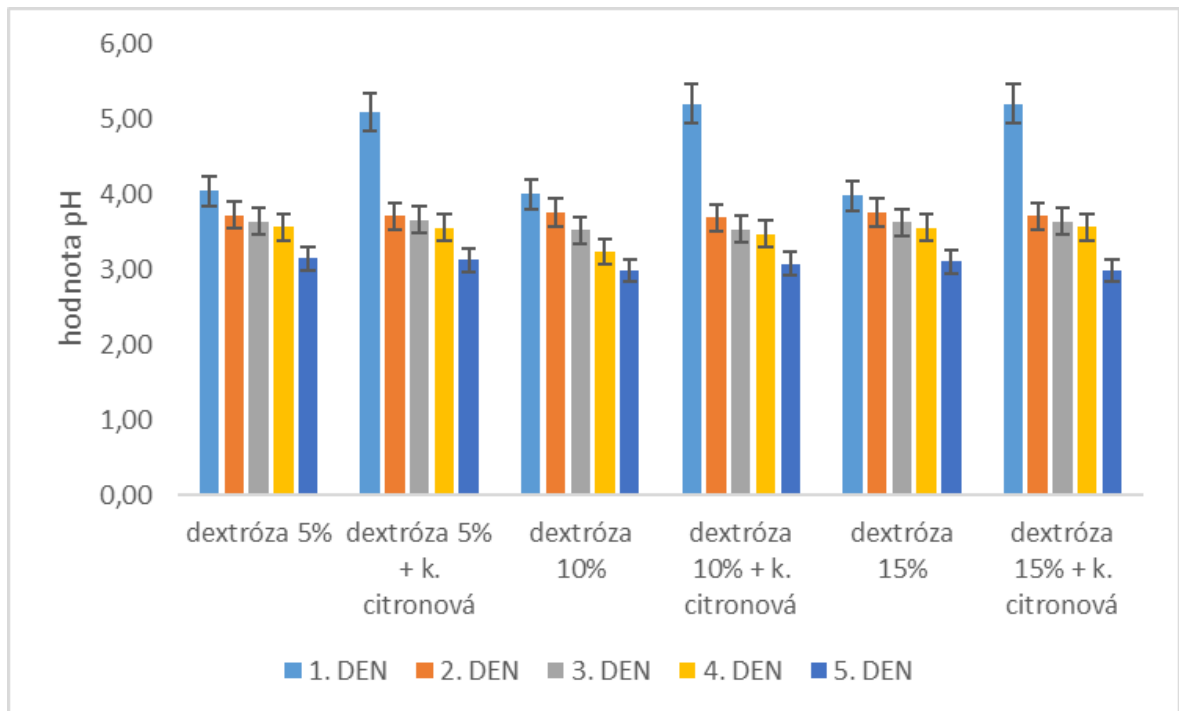
U cukerných roztoků s dextrózou je to opět velmi podobné. Největší rozdíl v pH mezi 1. a 5. dnem byl 2,12 a to u 10% roztoku dextrózy s úpravou pH. Naopak nejmenší rozdíl hodnoty pH se naměřilo u 5% roztoku dextrózy, jak lze vidět na obrázku číslo 7.

Dle vědeckého článku Laureys a kol., [51] bylo pH vodního kefiru naměřené první den rovno 5,88. Měření probíhalo také pět dní. Poslední den kleslo naměřené pH na 3,54. Rozdíl v měření činil tedy 2,34. Ve studii použili větší množství sacharózy s kombinací s říky [54].

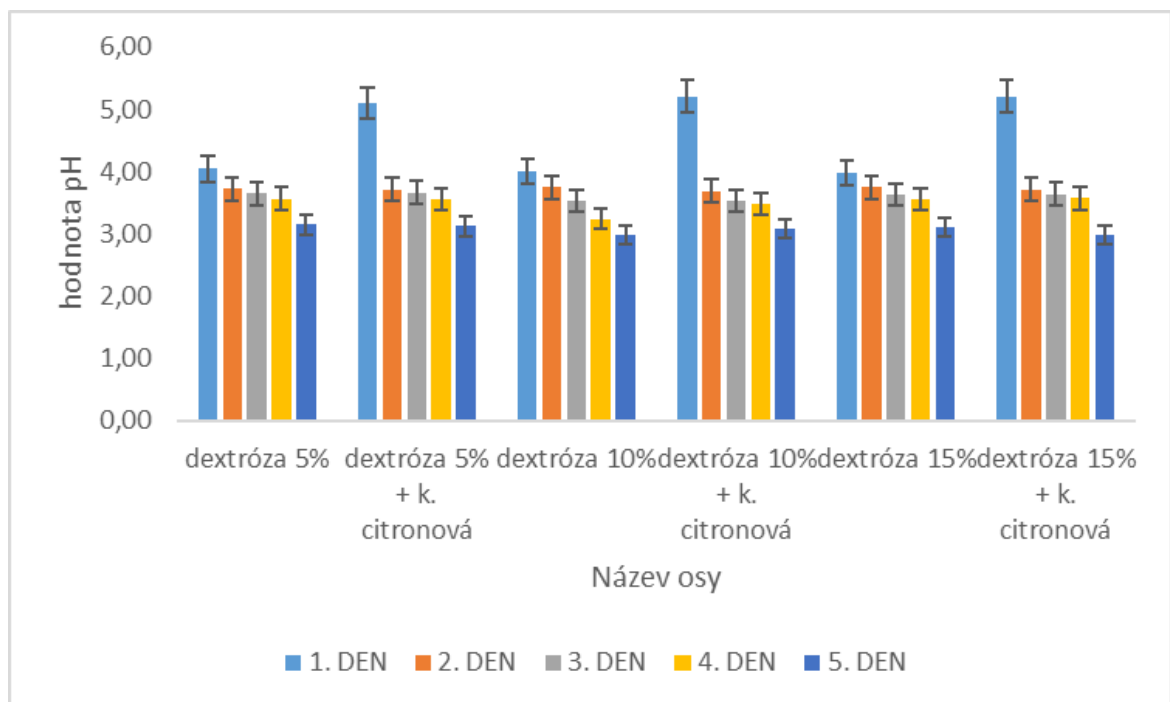
Pokles hodnot pH ovšem nemůže být neomezený. V průběhu fermentace sice ke snížení dojde, ovšem po určité době se pokles zpomalí a následně i zastaví. Mikroorganismy podílející se na fermentaci jsou vůči snížení pH odolnější a v takovém prostředí se dokážou

i nadále množit a růst. Vedlejších produkty jako jsou organické kyseliny mohou být i nadále využívány mikroorganismy. Tímto způsobem se zabrání neomezenému poklesu hodnot pH. Jestliže dojde k využití všech zdrojů potřebných pro průběh fermentace, mikroorganismy přestanou vytvářet ethanol a ostatní organické vedlejší produkty, a tím dojde k ustálení pH [55, 56].





Obrázek 6 - Naměřené hodnoty pH u vzorků s roztokem sacharózy



Obrázek 7 - Naměřené hodnoty pH u vzorků s roztokem dextrózy

## 5.4 Výsledky změny TDS

Vodní kefir po fermentaci obsahuje velmi rozmanité metabolity, produkty kvašení v závislosti na výchozích surovinách. Mezi tyto výsledné látky patří zbytkový cukr, kyselina mléčná a octová, ethanol, oxid uhličitý, manitol, vitaminy, které jsou převážně skupiny B, aminokyseliny (jedna z možných aminokyselin je třeba arginin), dále mezi produkty lze zařadit glycerol nebo estery, popř. další organické látky. Tyto látky pak mají vliv na výslednou hodnotu TDS a za následné zvyšování této hodnoty. Měřením TDS se zjišťují pouze veškeré rozpuštěné látky, ne konkrétní [47].

Při procesu fermentace dochází k přeměně živin, v tomto případě sacharidů na ostatní látky jako jsou ethanol, oxid uhličitý a organické látky [48]. Právě organické kyseliny jako je například kyseliny octová, mléčná nebo glukonová mohou zvyšovat hodnoty všech rozpuštěných látek. Kromě již zmiňovaných kyselin dochází k tvorbě vedlejších produktů jako jsou například estery, glycerol nebo jiné organické látky, které se také podílejí na navýšení koncentrace TDS. Při fermentaci dochází k pomnožení mikroorganismů, což může mít za následek nárůst hodnoty TDS [52, 54].

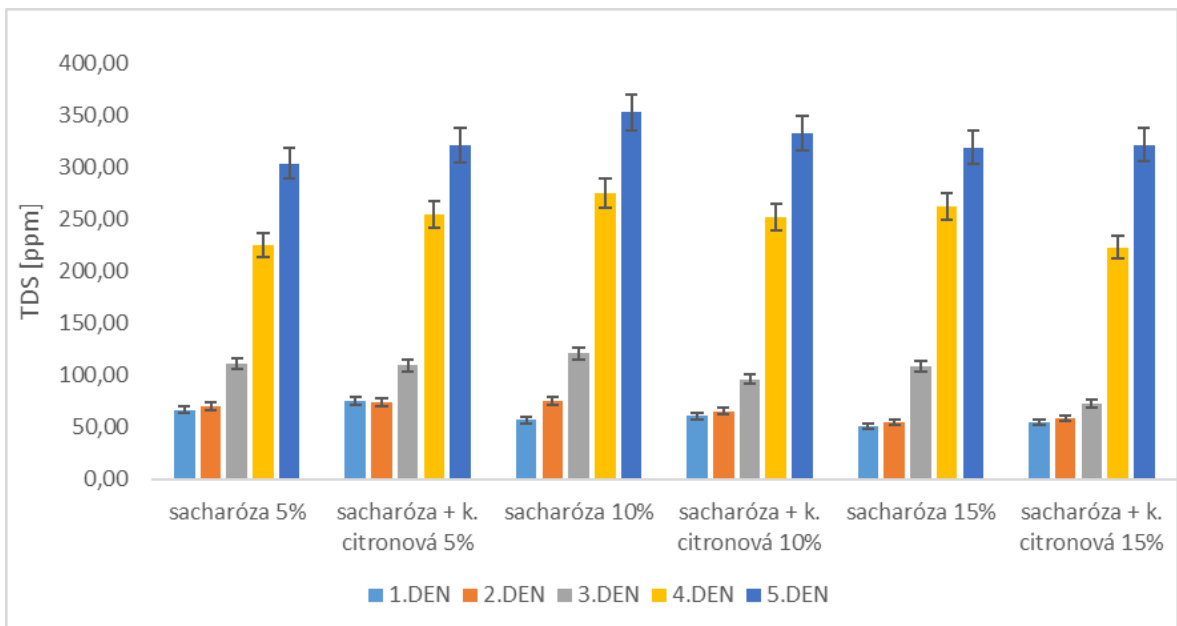
Zvyšování množství všech rozpuštěných látek závisí tedy na celkovém obsahu všech zkoumaných vzorků, na množství přítomných mikroorganismů, výchozích látek a zákyso vodního kefiru. Dále záleží na podmínkách fermentace [54].

Během procesu fermentace došlo k poměrnému nárůstu rozpuštěných látek, jak lze vidět na obrázku číslo 8 a 9. K největšímu skoku došlo mezi třetím a čtvrtým dnem u obou roztoků sacharidů. Na obrázku číslo 8 došlo k největšímu nárůstu u 10% roztoku sacharózy bez úpravy pH a to o 296 ppm. Naopak k nejmenšímu nárůstu došlo u 5% sacharózy. Z obrázku lze vidět, že první dva dny se hodnoty TDS téměř nezměnily, 3. den došlo k mírnému nárůstu, ale významněji začaly stoupat až ve 4. dnu měření.

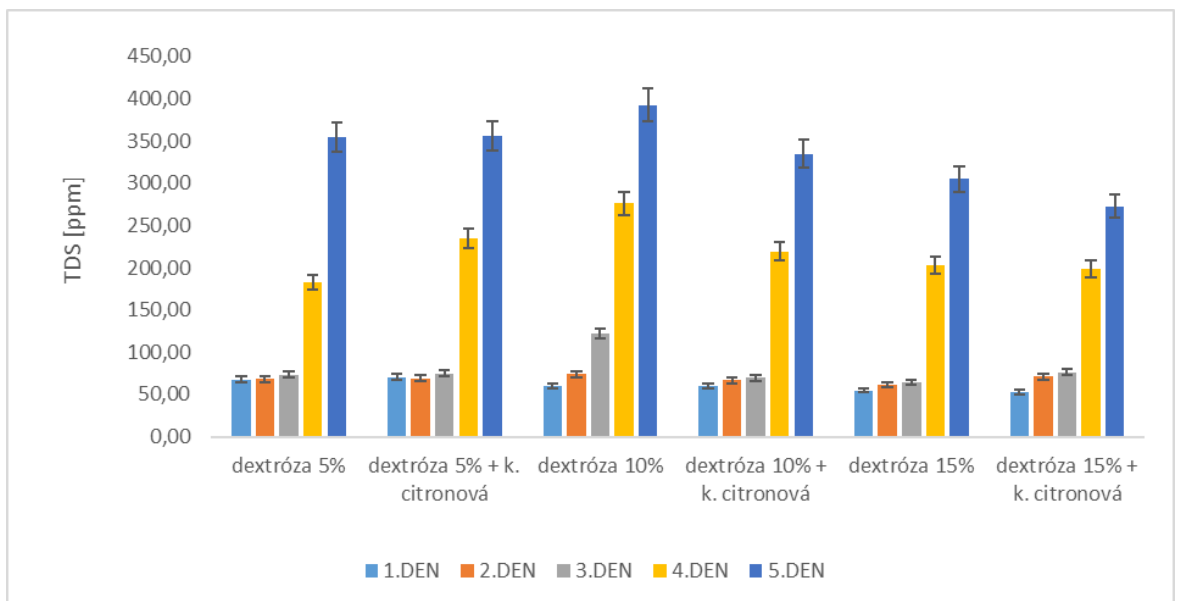
U roztoků s dextrózou hodnoty TDS dle obrázku číslo 9 začaly růst až ve 4. dni. První tři dny byly hodnoty poměrně podobné, nedocházelo k výrazným změnám. Ovšem k největšímu zvýšení hodnot při měření TDS došlo u roztoku 10% dextrózy bez úpravy pH. Množství rozpuštěných látek se zvedlo o 332 ppm. K nejmenšímu nárůstu zde došlo u roztoku 15% dextrózy s úpravou pH.

První den měření se pohybovaly hodnoty TDS v rozmezí od 55 do 70 ppm. Pátý den měření naměřené hodnoty přesahovaly u všech vzorků 300 ppm kromě roztoku 15% dextrózy

s úpravou pH, kde naměřená hodnota byla 272 ppm. U tohoto vzorku došlo k nejmenšímu nárůstu rozpuštěných látek v roztoku.



Obrázek 8 - Naměřené hodnoty TDS u roztoků sacharózy



Obrázek 9 - Naměřené hodnoty TDS u roztoků dextrózy

## 5.5 Výsledky změny refraktometrické sušiny

Jelikož vodní kefir obsahuje mikroorganismy, které podporují proces fermentace, dochází k vytváření ethanolu. Principem vzniku ethanolu je přeměna výchozí suroviny, v tomto případě sacharidu, na ostatní látky jako je ethanol, oxid uhličitý, organické kyseliny a další. Bakterie a kvasinky využívají při procesu fermentace sacharidy, a právě proto dochází k poklesu celkového množství koncentrace zkvasitelných sacharidů v systému [25, 32]

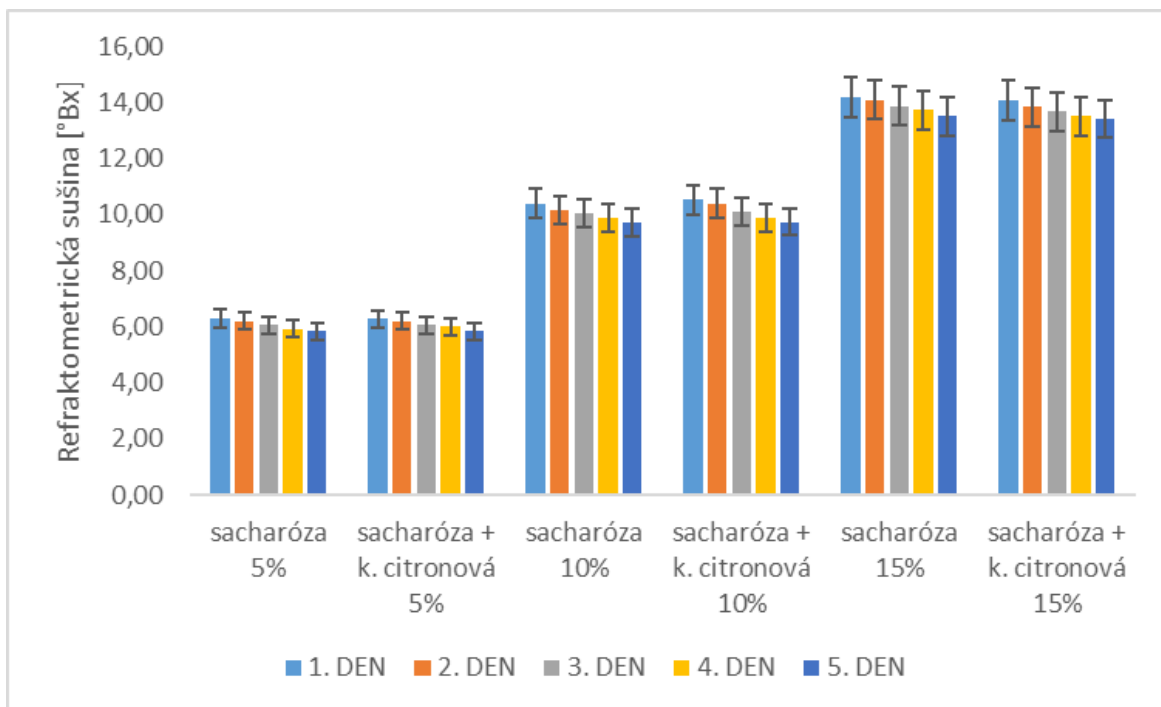
Během procesu fermentace dochází k přeměně sacharidů na ethanol pomocí mikroorganismů, zejména kvasinek. Sacharidy jsou pomocí enzymů invertázy a sacharázy rozkládány na jednodušší cukry a dochází k fermentaci. Právě proto, že je cukr primárním substrátem pro fermentaci dochází s narůstajícím časem ke snižování hodnot refraktometrické sušiny. Čím více je pokročilý proces kvašení, tím nižší je hodnota °Bx. Tento pokles souvisí s teplotou, při které fermentace probíhá. Nejčastěji se optimální teplota pro největší aktivitu kvasinek pohybuje v rozmezí od 20 do 30 °C. Spotřebu výchozího substrátu ovlivňuje i přítomnost kyslíku. Jelikož je fermentace anaerobní, je přístup kyslíku nežádoucí. Jestliže se měřením refraktometrické sušiny zjistí, že hodnoty °Bx postupně klesají znamená to, že probíhá fermentace. [57, 58]

Měření probíhalo pět po sobě jdoucích dní po 24 hodinách za stejných teplotních podmínek a výsledné hodnoty byly zaznamenávány ve °Bx. Tato stupnice slouží ke kvantitativnímu určení hmotnostního procentuálního obsahu sacharidů v jednotlivých roztocích [43].

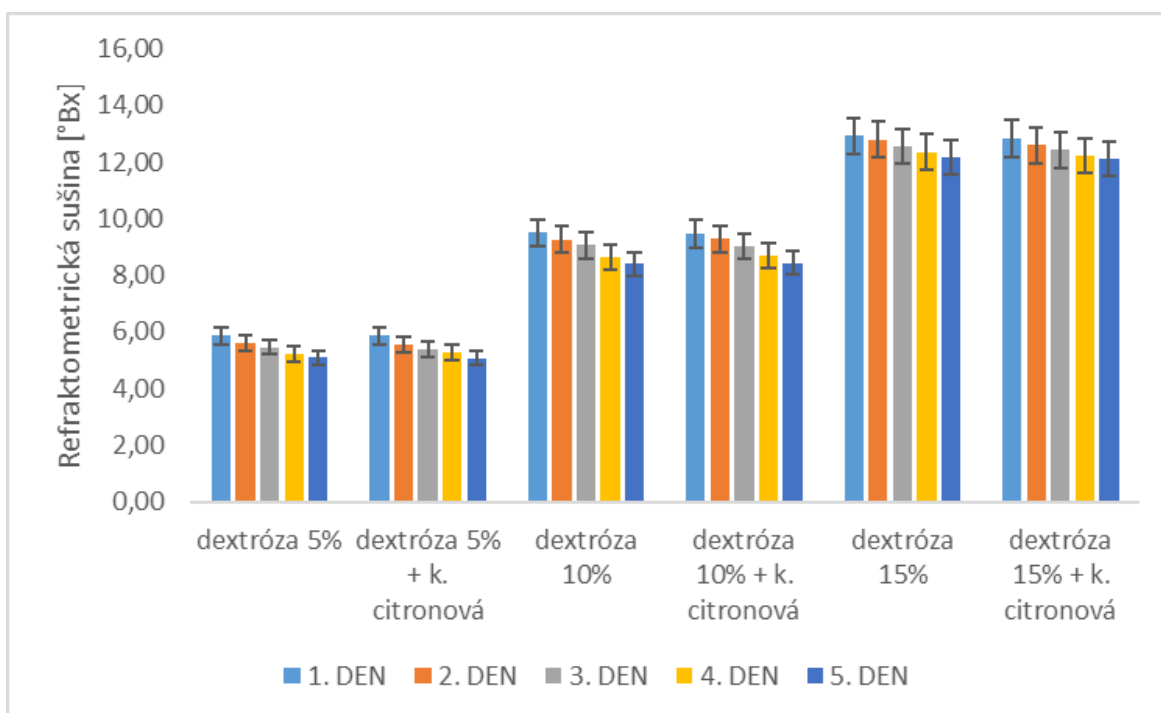
Na obrázcích číslo 10 a 11 lze vidět postupné klesání refraktometrické sušiny v průběhu pěti dnů, což svědčí o správném průběhu fermentace. Také lze vidět, jak refraktometrická sušina stoupá s rostoucím obsahem množství sacharózy nebo dextrózy.

Refraktometrická sušina neklesala moc rapidně a zdatelně. K největšímu poklesu na obrázku číslo 10 došlo u roztoku 10% sacharózy s úpravou pH a to o 0,80 °Bx. Naopak k nejmenšímu poklesu o 0,43 °Bx došlo u roztoku 5% sacharózy s úpravou pH.

U roztoku 10% dextrózy bez úpravy pH se vyskytl největší pokles refraktometrické sušiny o 1,10 °Bx, jak lze vidět na obrázku číslo 11. Malý pokles nastal u roztoku 5% dextrózy bez úpravy pH.



Obrázek 10 - Naměřené hodnoty refraktometrické sušiny u roztoků sacharózy



Obrázek 11 - Naměřené hodnoty refraktometrické sušiny u roztoků dextrózy

## ZÁVĚR

Záměrem práce bylo zjistit, jak mohou vybrané parametry ovlivnit průběh fermentace modelových systémů, které obsahují sacharidy. Poté následovalo posouzení nejvýhodnější koncentrace a druhu sacharidu, při které nápoj fermentuje nejoptimálněji. Zvolenými sacharidy byly dextróza a sacharóza.

U dvanácti modelových vzorků vyrobených z různých sacharidů a koncentrací, bylo měřeno pH, refraktometrická sušina, TDS, ethanol a hustota.

Ethanol za pět dní nejvíce narostl u 10% roztoku dextrózy bez úpravy pH. Největší nárůst ethanolu u sacharózy proběhl u roztoku 10% bez úpravy pH. Změny v množství alkoholu nebyly příliš zásadní, protože fermentace trvala pouze pět dní. Vzorky se řadí do nealkoholických nápojů, jelikož nepřevyšují 0,5 objemových procent alkoholu.

U hustoty nebyl pokles značně velký, přesto k největšímu snížení došlo u 10% roztoku dextrózy bez úpravy pH a to o  $0,0088 \text{ kg/m}^3$ . U ostatní hustot jednotlivých modelových vzorků byl rozdíl mezi prvním a posledním měřeným dnem maximálně  $0,0031 \text{ kg/m}^3$ .

Změny při měření pH hodnot byly již poměrně dobře znát hlavně u roztoků, u kterých došlo k úpravě pH, a tak výsledný rozdíl naměřených dat z prvního dne a pátého dne byl největší. K největšímu poklesu pH o 2,12 došlo u 10% roztoku dextrózy s úpravou pH.

Refraktometrická sušina klesá z důvodu probíhající fermentace, tím pádem ubývá substrát sacharózy nebo dextrózy a výsledná sušina se snižuje. K největšímu poklesu o  $1,10 \text{ }^\circ\text{Bx}$  došlo u 10% roztoku dextrózy bez úpravy pH.

Hodnoty TDS se první tři dny měření výrazně neměnily. K nárůstu došlo až čtvrtý a pátý den měření. 10% roztok dextrózy bez úpravy pH narostl až o 332,2 ppm, což byla nejvyšší zaznamenaná hodnota všech rozpuštěných látek během pěti dnů měření.

Jedná se o jednoduché modelové systémy, které jsou složeny ze sacharidu, zákysu vodního kefiru a vody. Tyto modelové vzorky mohou být podkladem pro výrobu složitější systémů. Dále se na základě získaných výsledků může optimalizovat a zlepšit účinnost a proces fermentace při výrobě vodního kefiru, snížit náklady při výrobě a zvýšit výslednou kvalitu produktů. Dále lze určit faktory, které mají významný vliv na proces fermentace, tyto parametry sledovat při výrobě a zaručit tak odpovídající a požadovanou kvalitu výrobků.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

[1] TORÁN-PEREG, Paula, Blanca DEL NOVAL, Susana VALENZUELA, Josefina MARTINEZ, Diego PRADO, Ramón PERISÉ a Juan Carlos ARBOLEYA. Microbiological and sensory characterization of kombucha SCOBY for culinary applications. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 2021, **23** [cit. 2023-03-20]. ISSN 1878450X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgfs.2021.100314

[2] COELHO, Raquel Macedo Dantas, Aryelle Leite de ALMEIDA, Rafael Queiroz Gurgel do AMARAL, Robson Nascimento da MOTA a Paulo Henrique M. de SOUSA. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 2020, **22** [cit. 2023-03-20]. ISSN 1878450X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgfs.2020.100272

[3] BISHOP, Peyton, Eric R. PITTS, Drew BUDNER a Katherine A. THOMPSON-WITRICK. Chemical Composition of Kombucha. *Beverages* [online]. 2022, **8**(3) [cit. 2023-03-20]. ISSN 2306-5710. Dostupné z: doi:10.3390/beverages8030045

[4] Kombucha: Demystifying The Past, Present And Future Of The Fermented Tea Drink. [*Kombucha: Demystifying The Past, Present And Future Of The Fermented Tea Drink*] [online]. 2017: forbes, 2017 [cit. 2023-03-20]. Dostupné z: <https://www.forbes.com/sites/christinatroitino/2017/02/01/kombucha-101-demystifying-the-past-present-and-future-of-the-fermented-tea-drink/?sh=7b79db374ae2>

[5] BISHOP, Peyton, Eric R. PITTS, Drew BUDNER a Katherine A. THOMPSON-WITRICK. Chemical Composition of Kombucha. *Beverages* [online]. 2022, **8**(3) [cit. 2023-03-20]. ISSN 2306-5710. Dostupné z: doi:10.3390/beverages8030045

[6] CHEN, Chin-Shun a Yu-Ting LIU. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2000, **89**(5), 834-839 [cit. 2023-03-20]. ISSN 1364-5072. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2672.2000.01188.x

[7] 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. 2023-03-27]. ISSN 1947-6337. Dostupné z: doi:10.1080/19476337.2017.1410499



- [8] BÜLBÜL, Ali Savaş, Esra ATALAN, Hatice ÜLGEN a Kevser Betül CEYLAN. The effect of Kombucha Fermentation on Chestnut Cancer Factor (*Cryphonectria parasitica* (Murrill) E.M Barr). *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* [online]. 2018, **18**(3), 304-313 [cit. 2023-03-27]. ISSN 1303-2399. Dostupné z: doi:10.17475/kastorman.498965
- [9] DUFRESNE, Christian a Edward FARNWORTH. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International* [online]. 2000, **33**(6), 409-421 [cit. 2023-03-20]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/S0963-9969(00)00067-3
- [10] GAO, Wanjun, Min YAN, Yu XIAO, Yaning LV, Chuanyi PENG, Xiaochun WAN a Ruyan HOU. Rinsing Tea before Brewing Decreases Pesticide Residues in Tea Infusion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2019, **67**(19), 5384-5393 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.8b04908
- [11] RUXTON, Carrie, Frankie PHILLIPS a Tim BOND. Is tea a healthy source of hydration?. *Nutrition Bulletin* [online]. 2015, **40**(3), 166-176 [cit. 2023-03-20]. ISSN 1471-9827. Dostupné z: doi:10.1111/nbu.12150
- [12] MAMUN, Mohammad Shameem Al. Tea Production in Bangladesh: From Bush to Mug. In: HASANUZZAMAN, Mirza, ed. *Agronomic Crops* [online]. Singapore: Springer Singapore, 2019, 2019-11-28, s. 441-505 [cit. 2023-03-20]. ISBN 978-981-32-9150-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-32-9151-5\_21
- [13] GUPTA, Manthan a Adarsh SHANKER. Fate of imidacloprid and acetamiprid residues during black tea manufacture and transfer into tea infusion. *Food Additives & Contaminants: Part A* [online]. 2009, **26**(2), 157-163 [cit. 2023-03-20]. ISSN 1944-0049. Dostupné z: doi:10.1080/02652030802363782
- [14] ZHANG, Gaoyang, Jihong YANG, Dandan CUI, Dandan ZHAO, Yingying LI, Xiaochun WAN a Jian ZHAO. Transcriptome and Metabolic Profiling Unveiled Roles of Peroxidases in Theaflavin Production in Black Tea Processing and Determination of Tea Processing Suitability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2020, **68**(11), 3528-3538 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.9b07737

- [15] KERIO, Lilian, Francis Nyamu WACHIRA, John Kanyiri, WANYOKO a ROTICH. Total polyphenols, catechin profiles and antioxidant activity of tea products from purple leaf coloured tea cultivars. *Food Chemistry* [online]. 2013, **136**(3-4), 1405-1413 [cit. 2023-03-20]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.066
- [16] TORÁN-PEREG, Paula, Blanca DEL NOVAL, Susana VALENZUELA, Josefina MARTINEZ, Diego PRADO, Ramón PERISÉ a Juan Carlos ARBOLEYA. Microbiological and sensory characterization of kombucha SCOBY for culinary applications. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 2021, **23** [cit. 2023-03-20]. ISSN 1878450X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgfs.2021.100314
- [17] ECHEVERRÍA, Ed. Activities of sucrose metabolising enzymes during sucrose accumulation in developing acid limes. *Plant Science* [online]. 1992, **85**(2), 125-129 [cit. 2023-03-20]. ISSN 01689452. Dostupné z: doi:10.1016/0168-9452(92)90106-V
- [18] POCOBELLI, Gaia, ULRIKE Peters, Alan KRISTAL a Emily WHITE. Use of Supplements of Multivitamins, Vitamin C, and Vitamin E in Relation to Mortality. *American Journal of Epidemiology* [online]. 2009, **170**(4), 472-483 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0002-9262. Dostupné z: doi:10.1093/aje/kwp167
- [19] BAUER-PETROVSKA, Biljana a Lidija PETRUSHEVSKA-TOZI. Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink. *International Journal of Food Science and Technology* [online]. 2000, **35**(2), 201-205 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0950-5423. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2621.2000.00342.x
- [20] MOHANPURIA, Prashant, Vinay KUMAR a Sudesh Kumar YADAV. Tea caffeine: Metabolism, functions, and reduction strategies. *Food Science and Biotechnology* [online]. 2010, **19**(2), 275-287 [cit. 2023-03-20]. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-010-0041-y
- [21] KITWETCHAROEN, Haruthairat, Ly Tu PHUNG, Preekamol KLANRIT, Sudarat THANONKEO, Patcharaporn TIPPAYAWAT, Mamoru YAMADA a Pornthap THANONKEO. Kombucha Healthy Drink—Recent Advances in Production, Chemical Composition and Health Benefits. *Fermentation* [online]. 2023, **9**(1) [cit. 2023-03-26]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation9010048
- [22] DUFRESNE, Christian a Edward FARNWORTH. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International* [online]. 2000, **33**(6), 409-421 [cit. 2023-03-26]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/S0963-9969(00)00067-3

- [23] YERLIKAYA, Oktay, Ecem AKAN a Özer KINIK. The metagenomic composition of water kefir microbiota. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 2022, **30** [cit. 2023-03-26]. ISSN 1878450X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgfs.2022.100621
- [24] GÖKIRMAKLI, Çağlar a Zeynep B. GÜZEL-SEYDIM. Water kefir grains vs. milk kefir grains: Physical, microbial and chemical comparison. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2022, **132**(6), 4349-4358 [cit. 2023-03-26]. ISSN 1365-2672. Dostupné z: doi:10.1111/jam.15532
- [25] KAMARLI ALTUN, Hulya, Merve Seyda KARACIL ERMUMCU a Nilgun SEREMET KURKLU. Evaluation of dietary supplement, functional food and herbal medicine use by dietitians during the COVID-19 pandemic. *Public Health Nutrition* [online]. 2021, **24**(5), 861-869 [cit. 2023-03-26]. ISSN 1368-9800. Dostupné z: doi:10.1017/S1368980020005297
- [26] 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. 2023-03-26]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128
- [27] GUZEL-SEYDIM, Zeynep B., Çağlar GÖKIRMAKLI a Annel K. GREENE. A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2021, **113**, 42-53 [cit. 2023-03-26]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.04.041
- [28] Vodní keřirové kultury. Vodní keřirové kultury na zkoušku [online]. Břeclav, 2018, 2018 [cit. 2023-03-26]. Dostupné z: <https://www.wugi.cz/p/vodni-keřirove-kultury-na-zkoušku>
- [29] LAUREYS, David, Amandine VAN JEAN, Jean DUMONT a Luc DE VUYST. Investigation of the instability and low water kefir grain growth during an industrial water kefir fermentation process. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2017, 101(7), 2811-2819 [cit. 2023-03-26]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-016-8084-5

- [30] MARTÍNEZ-TORRES, Abigail, Sandra GUTIÉRREZ-AMBROCIO, Pamela HEREDIA-DEL-ORBE, Lourdes VILLA-TANACA a César HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ. Inferring the role of microorganisms in water kefir fermentations. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2017, **52**(2), 559-571 [cit. 2023-03-26]. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.13312
- [31] SÁNCHEZ, Borja, Susana DELGADO, Aitor BLANCO-MÍGUEZ, Anália LOURENÇO, Miguel GUEIMONDE a Abelardo MARGOLLES. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Molecular Nutrition & Food Research* [online]. 2017, **61**(1) [cit. 2023-03-26]. ISSN 16134125. Dostupné z: doi:10.1002/mnfr.201600240
- [32] DAVIDOVIC, Sladjana, Miona MILJKOVIC, Dusan ANTONOVIC, Mirjana RAJILIC-STOJANOVIC a Suzana DIMITRIJEVIC-BRANKOVIC. Water Kefir grain as a source of potent dextran producing lactic acid bacteria. *Hemijska industrija* [online]. 2015, **69**(6), 595-604 [cit. 2023-03-26]. ISSN 0367-598X. Dostupné z: doi:10.2298/HEMIND140925083D
- [33] FDA: What we do. *The Food and Drug Administration* [online]. 03/28/2018 [cit. 2023-05-18]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/about-fda/what-we-do>
- [35] *International journal of pharmaceutical sciences and research* [online]. 2012-3-1 [cit. 2023-05-18]. Dostupné z: doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.3(3).711-26
- [37] Beer Analysis: Overview, 2021. Anton Paar [online]. [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: <https://www.anton-paar.com/?eID=documentsDownload&document=68006&L=0>
- [38] ENGELHARD, Sonja, Hans-Gerd LÖHMANN SRÖBEN a Frank SCHAEEL. Quantifying Ethanol Content of Beer Using Interpretive Near-Infrared Spectroscopy. *Applied Spectroscopy* [online]. 2004, **58**(10), 1205-1209 [cit. 2023-05-14]. ISSN 0003-7028. Dostupné z: doi:10.1366/0003702042336000
- [39] Merriam-Webster. (n.d.). Density. In Merriam-Webster.com dictionary. Retrieved May 14, 2023, from <https://www.merriam-webster.com/dictionary/density>
- [40] *Acidobazické titrace - učebnice* [online]. Univerzita Hradec Králové [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: <https://edu.uhk.cz/titrace/ucebnice.html>

[41] PH. *Merriam-Webster.com Dictionary*, Merriam-Webster, <https://www.merriam-webster.com/dictionary/pH>. Accessed 14 May. 2023.

[42] GILMORE, Kevin R. a Huan V. LUONG. Improved Method for Measuring Total Dissolved Solids. *Analytical Letters* [online]. 2016, **49**(11), 1772-1782 [cit. 2023-05-14]. ISSN 0003-2719. Dostupné z: doi:10.1080/00032719.2015.1123715

[43] *Stanovení refraktometrické sušiny dle ČSN EN 12143* [online]. 166 28 Praha 6 – Dejvice, 2018, 2018 [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: <https://ukp.vscht.cz/home/41949/41953>

[44] Stupnice cukernatosti v potravinách. *Labicom* [online]. Olomouc [cit. 2023-05-14]. Dostupné z:

chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.labicom.cz/cogwpspogd/uploads/2016/09/Stupnice-cukernatosti-v-potravinach.pdf

[45] BATISTA, Anderson S., Luiz C. MILETTI a Boris U. STAMBUK. Sucrose Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* Lacking Hexose Transport. *Microbial Physiology* [online]. 2005, **8**(1), 26-33 [cit. 2023-05-15]. ISSN 2673-1665. Dostupné z: doi:10.1159/000082078

[46] Vyhláška č. 248/2018 Sb., o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. In: Sběrka zákonů České republiky [online]. [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248>

[47] CUFAOGLU, Gizem a Ayse Nur ERDINC. An alternative source of probiotics: Water kefir. *Food Frontiers* [online]. 2023, **4**(1), 21-31 [cit. 2023-05-14]. ISSN 2643-8429. Dostupné z: doi:10.1002/fft2.200

[48] YERLIKAYA, Oktay, Ecem AKAN a Özer KINIK. The metagenomic composition of water kefir microbiota. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 2022, **30** [cit. 2023-05-14]. ISSN 1878450X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgfs.2022.100621

[49] OFFEMAN, Richard D., Diana FRANQUI-ESPIET, Jessica L. CLINE, George H. ROBERTSON a William J. ORTS. Extraction of ethanol with higher carboxylic acid solvents and their toxicity to yeast. *Separation and Purification Technology* [online]. 2010, **72**(2), 180-185 [cit. 2023-05-17]. ISSN 13835866. Dostupné z: doi:10.1016/j.seppur.2010.02.004

- [50] CHEN, Gan-Lin, Feng-Jin ZHENG, Bo LIN, Tian-Shun WANG a Yang-Rui LI. Preparation and Characteristics of Sugarcane Low Alcoholic Drink by Submerged Alcoholic Fermentation. *Sugar Tech* [online]. 2013, **15**(4), 412-416 [cit. 2023-05-18]. ISSN 0972-1525. Dostupné z: doi:10.1007/s12355-013-0248-3
- [51] LESNIAK, Wladyslaw, Jerzy PIETKIEWICZ a Waldemar PODGORSKI. *Biotechnology Letters* [online]. 24(13), 1065-1067 [cit. 2023-05-15]. ISSN 01415492. Dostupné z: doi:10.1023/A:1016030513270
- [52] ELMEHDI, Hussein, John, H. PAGE a Martin, SCANLON. Evaluating Density Changes During Fermentation by Different Techniques. *Cereal Chemistry Journal* [online]. 2007, **84**(3), 250-252 [cit. 2023-05-17]. ISSN 0009-0352. Dostupné z: doi:10.1094/CCHEM-84-3-0250
- [53] MARSH, Alan J., Orla O'SULLIVAN, Colin HILL, R. Paul ROSS a Paul D. COTTER. Sequence-based analysis of the microbial composition of water kefir from multiple sources. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 2013, **348**(1), 79-85 [cit. 2023-05-14]. ISSN 03781097. Dostupné z: doi:10.1111/1574-6968.12248
- [54] LAUREYS, David, Amandine VAN JEAN, Jean DUMONT a Luc DE VUYST. Investigation of the instability and low water kefir grain growth during an industrial water kefir fermentation process. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2017, **101**(7), 2811-2819 [cit. 2023-05-16]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-016-8084-5
- [55] YUAN, Yue, Yongzhen PENG, Ye LIU, Baodan JIN, Bo WANG a Shuying WANG. Change of pH during fermentation under alkaline, acidic and neutral conditions. *Bioresource Technology* [online]. 2014, **174**(2), 1-5 [cit. 2023-05-17]. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2014.07.104
- [56] MUZDALIFAH, Dian, Zatil Afrah ATHAILLAH, Arsa, NUGRAHANI a Angunn Fenika DEVI. Colour and pH changes of tempe during extended fermentation [online]. 2017, 020036- [cit. 2023-05-17]. Dostupné z: doi:10.1063/1.4973163
- [57] AKARCA, Gökhan a Fatma BAYTAL. Effects of fermentation on the quality characteristics and biological activities of Citrus juices. *Process Biochemistry* [online]. 2023 [cit. 2023-05-18]. ISSN 13595113. Dostupné z: doi:10.1016/j.procbio.2023.05.005

[58] MARTÍNEZ-TORRES, Abigail, Sandra GUTIÉRREZ-AMBROCIO, Pamela HEREDIA-DEL-ORBE, Lourdes VILLA-TANACA a César HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ. Inferring the role of microorganisms in water kefir fermentations. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2017, **52**(2), 559-571 [cit. 2023-05-18]. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.13312

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

TDS	Celkové množství rozpuštěných látek (Total dissolved solids)
FDA	Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)
CFU	Jednotky tvořící kolonie (Colony Forming Units)
ppm	Částice na jeden milion (Parts per million)
SCOPY	Symbiotické kultury bakterií a kvasinek (Symbiotics Culture of Bacterias and Yeasts)



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 - Vzhled zrn mléčného a vodního kefiru Fotografie Tugce Dagtekin a Zeynep Guzel Seydim.....	26
Obrázek 2 - Naměřené množství ethanolu u vzorků s roztokem sacharózy .....	36
Obrázek 3 - Naměřené množství ethanolu u vzorků s roztokem dextrózy .....	36
Obrázek 4 - Naměřená hustota u vzorků s roztokem sacharózy .....	38
Obrázek 5 - Naměřená hustota u vzorků s roztokem dextrózy .....	38
Obrázek 6 - Naměřené hodnoty pH u vzorků s roztokem sacharózy .....	41
Obrázek 7 - Naměřené hodnoty pH u vzorků s roztokem dextrózy .....	41
Obrázek 8 - Naměřené hodnoty TDS u roztoků sacharózy .....	44
Obrázek 9 - Naměřené hodnoty TDS u roztoků dextrózy .....	44
Obrázek 10 - Naměřené hodnoty refraktometrické sušiny u roztoků sacharózy .....	46
Obrázek 11 - Naměřené hodnoty refraktometrické sušiny u roztoků dextrózy .....	46

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 - příprava jednotlivých vzorků sacharózy.....	31
Tabulka 2 - příprava jednotlivých vzorků dextrózy.....	31