JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

Studijní program: B4131 Zemědělství
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Probiotické mikroorganismy v mléčných produktech

(Probiotic bacteria in dairy products)

Vedoucí bakalářské práce:
Ing. Eva SAMKOVÁ, Ph.D.

Autor bakalářské práce:
Květa KORANDOVÁ

Konzultant:
RNDr. Marcela Vyletělová, Ph.D.

České Budějovice
2012

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta zemědělská
Akademický rok: **2010/2011**

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Květa KORANDOVÁ**
Osobní číslo:	**Z09379**
Studijní program:	**B4131 Zemědělství**
Studijní obor:	**Zemědělské biotechnologie**
Název tématu:	**Probiotické mikroorganismy v mléčných produktech**
Zadávající katedra:	**Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů**

Zásady pro vypracování:

Nabídka funkčních potravin obsahujících probiotické mikroorganismy se rozvíjí spolu se stoupajícím zájmem spotřebitelů o tyto produkty příznivě ovlivňující zdravotní stav konzumentů.
Cílem bakalářské práce bude zpracování literárního přehledu o vybraných druzích probiotických mikroorganismů, jejich vlastnostech a zdravotních účincích, včetně posouzení všech kritérií při jejich využití v mlékárenských produktech.
Bakalářská práce je součástí řešení projektu OP VK CZ.1.07/2.3.00/09.0081 a bude vypracována na základě pokynů uvedených na www.zf.jcu.cz/studenti/informace-pro-studujici/ podle následující osnovy:

1. Úvod - význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce
2. Literární přehled - současný stav poznání problematiky s ohledem na cíle práce, zpracovaný na základě studia vědecké a odborné literatury
3. Závěr - shrnutí získaných informací, návrhy a doporučení vyplývající z problematiky
4. Summary - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
5. Seznam literatury - podle zásad ČSN 01 0197, ČSN ISO 690 a ČSN ISO 690-2.

Rozsah grafických prací:	**5-10 stran (tabulky, grafy)**
Rozsah pracovní zprávy:	**25-30 stran textu**
Forma zpracování bakalářské práce:	**tištěná**

Seznam odborné literatury:

— **HELLER, K.J.: Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. American Journal of Clinical Nutrition, 2001, 73 (2): 374S-379S.**

— **MOHAMMADI R., MORTAZAVIAN A.M.: Review Article: Technological Aspects of Prebiotics in Probiotic Fermented Milks. Food Reviews International, 2011, 27 (2): 192-212.**

— **SHAH, N.P. Probiotic Bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science, 2000, 83 (4): 894-907.**

— **KALAČ, P. Funkční potraviny - kroky ke zdraví. Dona, 2003, ISBN 80-7322-029-6**

— **Dokumenty, publikace a informace v časopisech Výživa a potraviny, Mlékařské listy a na internetových portálech Společnosti pro výživu (http://www.vyzivaspol.cz/), Potravinářské komory ČR (http://www.foodnet.cz/) nebo www.agronavigator.cz, www.mze.cz a www.mlekarstvi.cz**

— **Databáze CASLIN, Česká zemědělská bibliografie, CAB Abstracts, PROQUEST, dostupné na: http://www.lib.jcu.cz/cs/databaze**

— **Zákony, vyhlášky a nařízení legislativy ČR a EU týkající se zásad a požadavků na jakost a zdravotní nezávadnost živočišných produktů**

Vedoucí bakalářské práce:	**Ing. Eva Samková, Ph.D.** Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů
Konzultant bakalářské práce:	**RNDr. Marcela Vyletělová, Ph.D.** VUCHS, s.r.o., Vikýřovice, odd. mikrob.
Datum zadání bakalářské práce:	**14. března 2011**
Termín odevzdání bakalářské práce:	**15. dubna 2012**

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA studijní oddělení Studentská 13 370 05 České Budějovice

L.S.

prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.
děkan

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 14. března 2011

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně na základě vlastních poznatků a s použitím pramenů, uvedených v přehledu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích, 13. dubna 2012

……

Květa Korandová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala paní Ing. Evě Samkové, PhD. a panu prof. Ing. Pavlu Kalačovi CSc. za cenné připomínky, rady a odborné vedení mé bakalářské práce.

ABSTRAKT

Probiotické mikroorganismy jsou živé mikroorganismy, které podporují optimální složení střevní mikroflóry. Tato práce pojednává o jejich pozitivním vlivu na zdraví člověka. Zabývá se popisem nejčastěji používaných rodů bakterií, mezi které patří *Lactobacillus, Bifidobacterium, Streptococcus* a *Lactococcus.* Dále pojednává o zdravotních, mikrobiologických a technologických požadavcích potřebných pro dosažení účinnosti probiotik. Jsou také uvedeny charakteristiky produktů s obsahem probiotických mikroorganismů, mezi které patří farmaceutické preparáty a vybrané funkční potraviny. V této skupině je práce zaměřena zejména na fermentované mléčné výrobky.

Klíčová slova: probiotické mikroorganismy, probiotika, prebiotika, synbiotika, funkční potraviny, fermentované mléčné výrobky

ABSTRACT

Probiotic microorganisms are live organisms that facilitate optimal composition of intestinal flora. The thesis deals with the positive influence of probiotic microorganisms on human health. It describes the most frequently used bacteria family, which includes *Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus* and *Bifidobacterium*. The thesis also deals with health, microbiologic and technological requirements necessary for probiotic effectiveness. It offers an overview of characteristics of products containing probiotic microorganisms, which include pharmaceuticals and selected functional food. In the food group, the thesis particularly focuses on fermented milk products.

Key words: probiotic microorganisms, probiotics, prebiotics, synbiotics, functional foods, fermented milk products

Obsah

1. ÚVOD 9

2. CÍL PRÁCE 10

3. VÝZNAM POJMŮ 11

4. HISTORIE PROBIOTICKÝCH MIKROORGANISMŮ 13

5. PROBIOTICKÉ MIKROORGANISMY 14

5.1 Účinky probiotických bakterií 14

5.1.1 Vliv na imunitní systém 15

5.1.2 Vliv na infekční onemocnění 17

5.2 Přehled nejčastěji používaných rodů a druhů probiotických bakterií 19

5.3 Charakteristika významných rodů probiotik 20

5.3.1 Rod *Lactobacillus* 20

5.3.2 Rod *Bifidobacterium* 22

5.3.3 Rod *Streptococcus* 23

5.3.4 Rod *Lactococcus* 24

5.4 Požadavky na vlastnosti probiotických bakterií 26

5.4.1 Zdravotní požadavky 26

5.4.2 Mikrobiologické požadavky 27

5.4.3 Technologické požadavky 27

5.4.4 Legislativní vymezení probiotik 27

6. PREBIOTIKA 28

7. SYNBIOTIKA 29

8. PRODUKTY S OBSAHEM PROBIOTIK 29

8.1 Probiotické preparáty 29

8.2 Funkční potraviny 30

8.2.1 Legislativa 30

8.2.2 Povinné údaje na obalu výrobků s obsahem probiotik 31

8.2.3 Minimální množství probiotických mikroorganismů ve výrobcích 31

8.2.4 Nejčastější druhy funkčních potravin 31

8.3 Mléčné produkty s probiotickými bakteriemi 32

8.3.1 Fermentované mléčné výrobky 32

8.3.2 Zmrzlina a mražené dezerty 36

9. ZÁVĚR 37
10. SEZNAM LITERATURY 38
10.1 Odborné publikace 38
10.2 Elektronické zdroje: 40

1. ÚVOD

V posledních několika letech je věnována značná pozornost zlepšení zdravotního stavu člověka úpravou střevní mikroflóry. Zde hrají důležitou roli probiotické mikroorganismy. Probiotika mají příznivé účinky na střevní mikroflóru a imunitní systém. Probíhající výzkum prokazuje také potenciální působení v prevenci a terapii patofyziologických stavů.

Na trhu je dostupná řada produktů s obsahem probiotických mikroorganismů. Patří mezi ně mnoho různých farmaceutických preparátů, které se liší množstvím i druhy obsažených mikroorganismů. Složení závisí především na tom, pro jakou věkovou skupinu jsou určeny a z jakých zdravotních důvodů jsou doporučeny. Dále sem patří tzv. funkční potraviny, v nichž se probiotika aplikují především do skupiny fermentovaných mléčných výrobků.

Výrobky s obsahem probiotik mají obsahovat určitou minimální koncentraci živých probiotických mikroorganismů i v den končící trvanlivosti, která zajišťuje, že působení bakterií bude mít pozitivní vliv na zdraví konzumenta.

2. CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo zpracovat literární přehled o vybraných druzích probiotických mikroorganismů, jejich vlastnostech a zdravotních účincích, včetně posouzení všech kritérií při jejich využití v mlékárenských produktech.

3. VÝZNAM POJMŮ

Abiogeneze - samoplození, teorie vzniku živého z neživého

Aerobní – vyžadující kyslík

Anaerobní - bez přístupu vzduchu

Antagonistický - nepřátelský, protichůdný

Antigenní - vyvolávající v organizmu tvorbu protilátek

Antisepse - ničení choroboplodných mikroorganizmů chemickými prostředky

Asepse - soubor opatření zabraňujících vniknutí choroboplodných mikroorganizmů do organizmu, vytvářejících prostředí bez mikroorganismů

Atrézie - vrozená neprůchodnost dutého orgánu

Autointoxikace – samootrava

Bakteriociny - látky ničící (zabíjející) bakterie

Duodenum - dvanácterník, dvanáctník

Fermentované mléčné výrobky - jsou výrobky získané kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi za použití mikroorganismů mléčného kvašení, tepelně neošetřené po kysacím procesu

Funkční potraviny – jsou potraviny, u kterých je mimo jejich nutriční hodnotu, dostatečně prokázán příznivý účinek na jednu či více cílových funkcí v organismu, jež zlepšují fyzický i duševní zdravotní stav anebo přispívají ke snížení rizika vzniku určitých onemocnění

Gastrointestinální - týkající se trávicí soustavy

Generování – vyvíjení

Gingivitida - akutní nebo chronický zánět dásně s klinickými projevy omezenými pouze na gingivu, tj. supraalveolární část dásně

Homeostáza – stálost vnitřního prostředí, rovnováha

Cholangoitida - zánět žlučových cest

Ileum - dolní část tenkého střeva

In vitro - mimo živé tělo

In vivo - v živém nebo na živém těle

Jejunum - střední úsek tenkého střeva, lačník

Keratokonjunktivitida – zánět rohovky, díky nedostatku slz jsou spojivky i rohovka náchylnější k infekci a poškození

Kolon - úsek tlustého střeva, tračník

Kolonocyty - epitelové buňky sliznice tlustého střeva

Kontinuální - spojitý, souvislý, nepřetržitý

Maturace – vyzrávání

Orální – ústní

Patofyziologický - chorobné pochody a změny funkcí organizmu v průběhu nemoci

Periodontální – týkající se ozubice

Periodontitida - zánět ozubice, zánět podpůrných tkání zubu

Prebiotika - nestravitelné látky obsažené v potravinách, které selektivně podporují růst nebo aktivitu určitých střevních bakterií. Pozitivně tím ovlivňují složení střevní mikroflóry a vykazují tak celkový příznivý vliv na zdraví a pohodu konkrétního jedince

Probiotika - termín je odvozen z řeckého slova "pro bios" = "pro život", jsou to živé mikroorganismy, které podporují optimální složení a účinky střevní mikroflóry

Recidivující - znovu, opětovně se vracející

Rezistence – odolnost

Saprofytické bakterie -bakterie využívající k výživě odumřelou organickou hmotu

Splanchnický – útrobní

Synbiotika - kombinace probiotik a prebiotik

4. HISTORIE PROBIOTICKÝCH MIKROORGANISMŮ

O pozitivním působení zakysaných mléčných výrobků se zmiňuje již Bible ve Starém zákonu v knize Genesis, kde se Abrahám dožívá vysokého věku. Jeho dlouhověkost je přisuzována konzumováním kyselého mléka a výrobků z něj.

Avšak podložené úvahy o pozitivním působení střevní mikroflóry mohly následovat až po objevení mikroorganismů. Pod mikroskopem viděl bakterie první Antonie van Leewenhoek (1632-1723). Samotný rozvoj mikrobiologie ale nastal mnohem později, v 19. a 20. století. Za skutečné zakladatele bakteriologie a mikrobiologie jsou označováni Louis Pasteur a Robert Koch.

Louis Pasteur (1822-1895) vyvrátil teorii abiogeneze a dokázal, že za kysání potravin a vznik některých nemocí mohou mikroorganismy. Objevil princip kvašení a rozvinul tvorbu a aplikaci vakcín například proti vzteklině. Robert Koch (1843-1910) jako první nalezl původce antraxu, cholery a tuberkulózy.

V roce 1887 byl založen Pasteurův institut, kde působili odborníci z oboru mikrobiologie. Od roku 1908 získali vědci tohoto institutu osm Nobelových cen. Joseph Lister (1827-1912), na základě vědeckých poznatků Kocha a Pasteura, postavil svou teorii asepse, antisepse a aseptické operace (KOHOUT, 2010).

Ilja Iljič Mečnikov (1845-1916) publikoval v roce 1907 tzv.: „optimistickou studii o prodloužení věku“, ve které se zabýval lidmi žijícími v balkánských zemích, kteří se na základě pravidelné konzumace jogurtů a zakysaných mléčných výrobků dožívali nadprůměrného věku. Tento jev připisoval bakteriím mléčného kvašení, které utlumují patogenní mikroorganismy vyskytující se ve střevě a vyslovil tzv. teorii autointoxikace střevními bakteriemi. Za tyto práce získal Nobelovu cenu v roce 1908 (RADA, 2008).

V Pasteurově institutu byla později objevena bakterie, která se vyskytuje ve střevě kojenců. Henry Tissier ji označil jako *Bacillus bifidus communis.*
Později byla dokázána její účinnost při prevenci dětských průjmů a byla přejmenována na *Bifidobacterium.*

Termín probiotikum použil až v roce 1953 Kollath jako opak antibiotika. Teorie probiózy znamenala ovlivnění nebo potlačení mikroba jiným mikrobem. Antibiotikum lze definovat jako látku, která působí proti bakteriím.

Jedna ze současných definicí probiotik pochází z roku 1989. Roy Fuller definoval probiotikum jako živý mikrobiální potravinový doplněk, který pozitivně ovlivňuje hostitele zlepšením složení jeho střevní mikroflóry (KOHOUT, 2010).

5. PROBIOTICKÉ MIKROORGANISMY

5.1 Účinky probiotických bakterií

Gastrointestinální trakt (GIT) člověka je osídlen tisíci druhy různých mikroorganismů. Jejich množství, výskyt a zastoupení závisí na mnoha faktorech, mezi které patří genetické predispozice, životní styl, stravování, farmakoterapie, geografické podmínky a další (FERENČÍK, 2005).

Bakteriální osídlení v jednotlivých částech GIT se liší množstvím bakterií a druhovým spektrem. Množství v horní části (ústní dutina, jícen, žaludek a duodenum) se pohybuje mezi 10^3-10^4 a v jejunu a ileu se pohybuje řádově mezi 10^4-10^8 KTJ (kolonii tvořící jednotka) nejvíce je mikroflóra rozšířena v kolonu, kde se její množství odhaduje ba 10^{10}-10^{12} mikroorganismů (ZBOŘIL, 2005).

Střevní mikroflóra horní části střeva je zastoupena převážně fakultativně anaerobními bakteriemi rodu *Streptococcus, Enterobacterium, Lactobacillus, Staphylococcus, Propionibacterium* a *Bacillus.* V dolní části se vyskytují bakterie striktně anaerobní např.: *Bifidobacterium, Bacteroides, Eubacterium, Peptococcus, Fusobacterium, Proteus, Clostridium*, kvasinky a koliformní bakterie (GUEIMONDE, SALMINEN,2005).

Probiotické bakterie působí na trávicí trakt buď svou vlastní přítomností a to tak, že vytěsňují patogenní nebo potenciálně patogenní mikroorganismy díky růstu a produkci kyselých látek, tvorbě antimikrobiálních látek, konkurencí o potravu nebo úpravou prostředí, kdy je zvýhodněn růst takových skupin již přítomných bakterií, které pozitivně ovlivňují zdravotní stav hostitele.

Mezi další prospěšné působení probiotik patří tvorba vitaminů a mastných kyselin s krátkým řetězcem (tzv. těkavých, zejména máselné kyseliny), které slouží jako substrát pro buňky tlustého střeva (kolonocyty) (KOHOUT, 2010).

Probiotika obnovují fyziologickou rovnováhu střevní mikroflóry, která může být porušena požíváním některých léků, konzervantů, barviv a pesticidů v potravě nebo i při nesprávném životním stylu a výživových návycích.

Snižují množství hnilobných bakterií v lidském střevě, které využívají zbytky živočišných bílkovin především u lidí, kteří mají v potravě malý podíl vlákniny a větší podíl živočišných bílkovin. Hnilobné bakterie tvoří látky, které jsou potenciálně karcinogenní nebo jsou schopny přeměňovat prokarcinogeny v trávicím traktu na karcinogeny.

Dokážou obnovit přirozenou střevní mikroflóru, která byla narušena při léčbě antibiotiky nebo chemoterapeutiky. Doporučuje se přidání probiotických bakterií současně k léčbě. Zabrání se tak přemnožení bakterie *Clostridium difficile*, která způsobuje střevní dysmikrobii (BARTOŠOVÁ, 2009).

Probiotické bakterie ve většině případů nekolonizují trávicí trakt hostitele, proto je vhodné je užívat dlouhodobě nebo trvale anebo do doby, kdy jsou vyrovnány stravovací návyky a příjem dostatečného množství vlákniny dokáže udržet vlastní pozitivní mikroflóru (KOHOUT, 2010).

Pozitivně regulují koncentraci cholesterolu, ten přeměňují v tenkém střevě na neúčinný koprostanol, tím pomáhají snižovat koncentraci sérového cholesterolu (OOI, LIONG, 2010).

Probiotika by také mohla pozitivně působit v orální dutině při různých periodontálních onemocněních, gingivitidě a periodontitidě, účinky však zatím nejsou ověřeny (HAUKIOJA, 2010).

5.1.1 Vliv na imunitní systém

V imunitním systému dochází k interakcím mezi makroorganismem a mikroorganismem.

Slizniční imunitní systém zabraňuje pronikání infekčních a imunogenních složek ze sliznic do cirkulace (bariérová funkce), zajišťuje obranu proti patogenním mikroorganismům (antiinfekční úloha), nereaktivnost imunitního systému organismu vůči antigenům přítomným na sliznici (orální nebo slizniční tolerance) a přispívá k udržení homeostázy.

Vrozená (nespecifická) imunita

Na sliznicích se vyskytují základní buňky přirozené imunity, tj. neutrofily, makrofágy, NK (natural killers, přirození zabíječi), dendritické buňky a žírné buňky. Epitelové buňky jsou hlavní součástí mechanické bariéry a také součástí přirozené (vrozené) obranyschopnosti sliznic. Úkolem buněk přirozené imunity je rozpoznat, pohlcovat, zpracovávat a předkládat antigeny buňkám adaptivní imunity (KOKEŠOVÁ, 2009).

Adaptivní (specifická, získaná) imunita

Uplatňuje se, pokud dojde k infekci organismu. Nástup získané imunitní reakce trvá 5-6 dní. Výhodou je, že si tělo dokáže zapamatovat určitý antigen, který reakci vyvolal a při dalším setkání je mnohem účinnější. Tento proces se nazývá imunologická paměť.

Adaptivní paměť je zprostředkována zejména T a B-lymfocyty. T-lymfocyty jsou složkou buněčné imunologie, patří sem bílé krvinky, makrofágy nebo neutrofily. B-lymfocyty jsou účinné nástroje látkové imunity a produkují protilátky (www.colostrum-info.cz/imunita).

V submukóze tenkého střeva je uloženo největší množství buněk imunitního systému. Je to dáno tím, že nejvíce antigenů do těla přichází přes trávicí trakt. Právě tady je podstatné rozlišit, kdy přicházející antigen zničit, tolerovat anebo ho prospěšně využít.

Důležitý je také mikrofilm, který ulpívá na povrchu střevní sliznice a je tvořen hlenem, který produkují pohárkové buňky. Často je v něm obsaženo velké množství saprofytických bakterií a sekrečních protilátek, které interferují s patogeny a tvoří tak součást střevní bariéry. Zároveň brání v generování kontinuální obranné reakce.

Při kontaktu buněk střevního imunitního systému s živými probiotiky se aktivují nespecifické i specifické imunitní mechanismy ve střevním lymfatickém systému i v systémové imunitě. Probiotika ovlivňují imunitní odpověď: nespecificky - stimulací fagocytózy, cytotoxické aktivity a ovlivnění produkce imunoregulačních cytokinů. Specificky - stimulací tvorby protilátek (SAXELIN, TYNKKYNEN, MATTILA-SANDHOLM, 2005).

Nejvýznamnější rozvoj imunitního systému je v období od narození dítěte přibližně do jednoho roku. V tomto období dochází k vyzrávání střevní sliznice a rozhoduje se zde o následující toleranci či reakci proti různým antigenům. Pokud má dítě v tomto, ale i dalším období málo podnětů pro vytvoření imunitního systému, může to vést k predispozicím pro alergické či autoimunní reakce. Zdravá střevní mikroflóra má veliký význam při maturaci imunitního systému a směřuje tak k nealergickému typu. Studie prokazují bezpečnost podávání probiotik těhotným ženám a novorozencům. Pro účinek je podstatný druh probiotické bakterie a její schopnost přežití v organismu (COLLADO, ISOLAURI,SALMINEN, 2009).

V průběhu druhé poloviny 20. století došlo ke změnám v potravinářských technologiích a zvýšila se úroveň hygieny. To vedlo ke snížení rizika alimentárních nákaz, popřípadě úmrtí, ale zároveň k dysregulaci imunitního systému a k nastavení abnormální imunitní reaktivity. Výrazně se snížilo množství podnětů, se kterými se organismus setkává, což směřuje ke vzniku alergií.

Vznik abnormální imunitní reaktivity také souvisí s tím, že při banálních infekcích jsou časně podávána antibiotika a další antibakteriální látky a organismus tak nemá čas si vytvořit protilátky. Velmi podobně působí i vysoká úroveň hygieny, kdy dochází k menšímu množství mikrobiálních podnětů. Další součástí tohoto problému je podávání vakcín proti mnoha virům a bakteriím a užívání antimikrobiálních látek působící v potravě. Jako řešení se nabízí prodloužená doba kojení a podávání látek s prebiotickými vlastnostmi a probiotik (KOHOUT, 2010).

5.1.2 Vliv na infekční onemocnění

Probiotika byla rozsáhle studována v několika posledních letech v prevenci proti průjmovému onemocnění zejména u dětské populace. Byly testovány bakterie *Lactobacillus GG a Bifidobacterium lactis* samostatně nebo v kombinaci se *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus reuteri* nebo *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus acidophilus*. Účinnost byla poměrně malá, avšak další testy ukázaly dobré výsledky o působení *Lactobacillus GG* a kvasinky *Saccharomyces boulardii*. Výsledky dokazují snížení výskytu infekčního průjmu a výskytu *Clostridium difficile* související s postantibiotickým průjmem. Účinek několika kmenů probiotik byl využit při léčbě sporadického infekčního průjmu. Výsledkem příznivého účinku je snížení doby trvání

průjmu na přibližně jeden den. Účinek je závislý na kmenu a dávce (GUANDALINI, 2011).

Laktobacily jsou úspěšně užívány u pacientů s průjmy při HIV/AIDS, při nosičích salmonely a dalších.

Probiotika také preventivně působí proti cestovatelským průjmům a pomáhají i při jejich léčbě.

V medicíně se využívají v prevenci infekčních komplikací různých onemocnění. Například se jedná o prevenci vzniku cholangoitidy u operací atrézie žlučových cest (*L.rhamnosus*) nebo snížení rezistence *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* na antibiotika u pacientů s cystickou fibrózou (*L. acidophilus*)
(KOHOUT, 2010).

Bakterie mléčného kvašení působí příznivě nejen na trávicí trakt hostitele, ale i na slizniční imunitní systém a zajišťující ochranu sliznice. Dochází k vývoji potravin s obsahem probiotických mikroorganismů, které mají schopnost stimulovat respirační imunitu a zvyšují tím odolnost vůči infekcím.

Pokroky v molekulární biologii umožňují rozvoj rekombinačních kmenů, konkrétních antigenů z respiračních patogenů a dochází k vyvolání efektivní ochranné imunitní reakci. Bakterie rodu *Lactobacillus* zlepšují imunitní reakci proti *Streptococcus pneumoniae* (VILLENA, OLIVEIRA, FEREIRA PATRICIA, 2011).

Mezi další indikace probiotik lze řadit prevenci i léčbu recidivujících močových infekcí, systémové mykózy, keratokonjunktivitidy či zubního kazu. Mezi probiotické mikroorganismy patří také sacharolytické bakterie, které vstupují do metabolismu živin. Předpokládá se, že přidání probiotik do stravy by mohlo vést k vzájemnému ovlivňování s přítomnou mikroflórou u pacientů s obezitou a dalšími civilizačními chorobami (KOHOUT, 2010).

5.2 Přehled nejčastěji používaných rodů a druhů probiotických bakterií

(NEVORAL, 2005)

Rod *Lactobacillus*	*L. acidophilus* *L. casei, ssp. rhamnosus (Lactobacillus GG)* *L. casei Shirota* *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* *L. reuteri* *L. brevis* *L. cellobiosus* *L. curvatus* *L. fermentum* *L. plantarum 299v*
Gram pozitivní koky	*Lactococcus lactis ssp. cremoris* *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* *Enterococcus faecium* *Streptococcus diacetylactis* *Streptococcus intermedius* *Escherichia coli (sérotyp O83:K24:H1)*
Rod *Bifidobacterium*	*B. bifidum* *B. adolescentis* *B. animalis* *B. infantis* *B. longum* *B. thermophilum*
Kvasinkovité mikroorganismy	*Saccharomyces boulardii*

5.3 Charakteristika významných rodů probiotik

5.3.1 Rod *Lactobacillus*

Rod *Lactobacillus* jsou fakultativně anaerobní, nepohyblivé bakterie mléčného kvašení. Fermentují glukózu a laktózu. Produkty fermentace jsou kyselina mléčná, kyselina octová, ethanol a CO_2. Optimální teplota růstu je v rozmezí 15-45 °C, závisí ale na druhu bakterie. Kyselost se pohybuje v rozpětí pH mezi 4,5-6,4 opět v závislosti na konkrétním druhu bakterie.

Přirozeně se vyskytují v zažívacím traktu zvířat a lidí, ale i ve volné přírodě a proto se stávají častou součástí potravy.

Rod *Lactobacillus* se využívá v potravinářství díky jeho tvorbě kyseliny mléčné. Její vlastností je snižování pH v daném prostředí, čímž zabraňuje množení hnilobných a patogenních bakterií.

V mlékárenství se používají nejvíce druhy: Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus, Lactobacillus acidophilus a Lactobacillus casei.

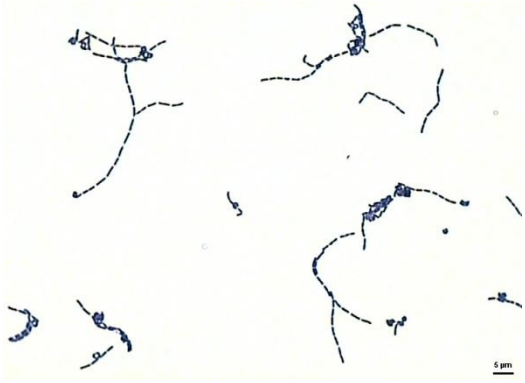
Druhy rodu *Lactobacillus* patří k významným taxonům v potravinářské mikrobiologii se závažnou úlohou v lidské výživě (KREJSEK, KUNDLOVÁ, KOLÁČKOVÁ, 2007).

Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus

Gram-pozitivní nesporulující tyčinky se zaoblenými konci, vyskytující se jednotlivě nebo v řetízcích. Jejich optimální kultivační teplota je 45 °C. Mléko sráží za 3-4h při 43-45 °C v celé hmotě najednou.

Obrázek č. 1: *Lactobacillus delbrueckiii ssp. bulgaricus* po anaerobní kultivaci na MRS agaru

Obrázek č. 2: *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* po anaerobní kultivaci v MRS bujonu, barveno podle Grama, zvětšení 10x100



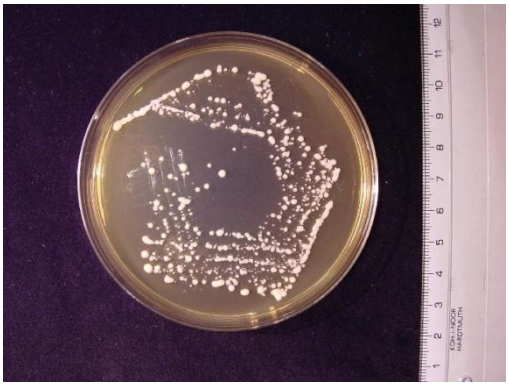
(http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

Lactobacillus casei

Gram-pozitivní nesporulující tyčinky s hranatými konci, vyskytující se jednotlivě i v řetízcích. Optimální kultivační teplota je 30 °C. Vyskytují se v zažívacím traktu lidí a zvířat, ve vagině žen, na rostlinách nebo v půdě.

(www.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpdf/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

Obrázek č. 3: *Lactobacillus casei* po aerobní kultivaci na MRS agaru



Obrázek č. 4: *Lactobacillus casei* po aerobní kultivaci v MRS bujonu, barveno podle Grama, zvětšení 10x100

(http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

5.3.2 Rod *Bifidobacterium*

Rod *Bifidobacterium* jsou gram-pozitivní, anaerobní a nesporulující bakterie. Mají většinou nepravidelný tvar, objevují se jednotlivě i v řetízcích nebo v hvězdicovitém uspořádání.

Tyto bakterie se nechají považovat za striktně anaerobní, ale vyskytují se i druhy, které za přítomnosti určitého množství CO_2 nebo bifidogenních faktorů jsou schopny snášet přítomnost O_2 v prostředí.

Teplotní optimum se pohybuje v rozmezí 37-41 °C, avšak minimum je okolo 28 °C a maximum 43 °C. Kyselost se pohybuje mezi hodnotami pH 6,5-7.

Bakterie rodu *Bifidobacterium* štěpí fermentované sacharidy na kyseliny mléčnou a octovou. Je pro ně charakteristické, že tvoří větší podíl kyseliny octové, a to v poměru 3:2 ke kyselině mléčné. Tento poměr je významný tím, že kyselina octová má vyšší antagonistický účinek proti patogenním gram-negativním bakteriím.

Nejvíce se jako probiotické kultury používají druhy *Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium breve* a *Bifidobacterium thermophilus* (KREJSEK, KUNDLOVÁ, KOLÁČKOVÁ, 2007).

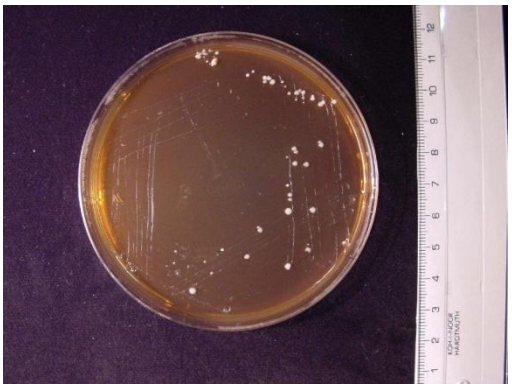
Bifidobacterium bifidum

Nepravidelné, nesporulující gram-pozitivní tyčinky, jsou dlouhé, větvené, tvoří shluky ve tvaru „amfory“, jejich morfologie je ovlivněna kultivačními podmínkami. Jsou striktně anaerobní.

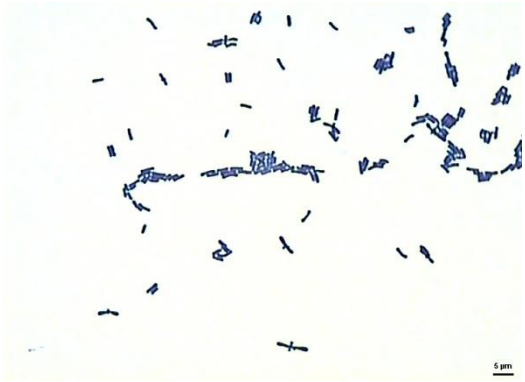
Vyskytují se ve fekáliích dospělých lidí a u kojenců, v ženské vagině nebo ve fekáliích sajících telat.

Jsou známy dva serovary. Serovar A se vyskytuje ve fekáliích dospělých lidí a serovar B ve fekáliích kojenců. Liší se zkvašováním sacharózy, melibiózy a maltózy (www.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpdf/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

Obrázek č. 5: *Bifidobacterium bifidum* po anaerobní kultivaci na MRS agaru



Obrázek č. 6: *Bifidobacterium bifidum* po anaerobní kultivaci v MRS bujonu, barveno podle Grama, zvětšení 10x100



(http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

5.3.3 Rod *Streptococcus*

Bakterie rodu *Streptococcus* jsou gram-pozitivní, fakultativně anaerobní mikroorganismy. Tvar mají kulatý nebo vejcovitý, vyskytují se v párech nebo řetízcích a většinou jsou nepohyblivé. Fermentují sacharidy na kyselinu mléčnou a různé rody fermentují i organické kyseliny a aminokyseliny.

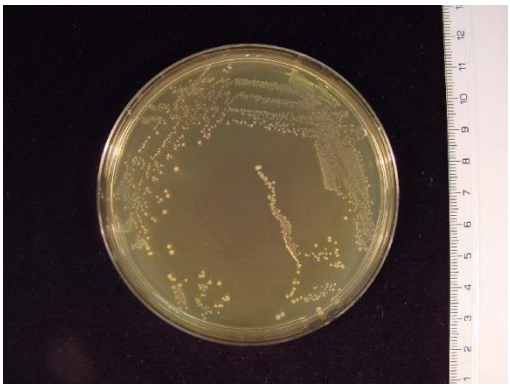
Optimální teplota pro růst je 37 °C, výjimku však tvoří termofilní druhy jako například *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Streptococcus salivarius ssp. thermophilus

Gram-pozitivní, nesporulující kulaté nebo oválné buňky, uspořádané v párech nebo různě dlouhých řetízcích (až 50 buněk). Optimální kultivační teplota 37-42 °C. Jsou fakultativně anaerobní.

Vyskytují se v intestinálním traktu člověka, zvířat, lidských slinách a v tepelně ošetřeném mléku
(www.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpdf/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

Obrázek č. 7: *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* po aerobní kultivaci na M17 agaru s glukózou



Obrázek č. 8: *Streptococcus salivarius ssp.* thermophilus po aerobní kultivaci v M17 bujonu s glukózou, barveno podle Grama, zvětšení 10x100

(http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

5.3.4 Rod *Lactococcus*

Bakterie rodu *Lactococcus* se řadí mezi gram-pozitivní bakterie. Objevují se často v přírodě. Jsou používány především k výrobě sýrů.

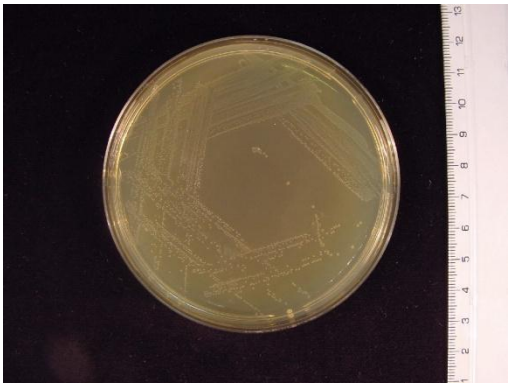
Lactococcus osidluje jako jedna z prvních bakterií střevo novorozence. Tvoří vitamin K a účinné bakteriociny.

Mezi nejvyužívanější druhy patří: Lactococcus lactis ssp. lactis a Lactococcus lactis ssp. cremoris.

Lactococcus lactis ssp. lactis

Buňky jsou vejcovitého tvaru, nejčastěji v párech nebo kratších řetízcích. Optimální teplota pro růst je 30 °C, ale snese i teploty v rozmezí 10-40 °C.

Obrázek č. 9: *Lactococcus lactis ssp. lactis* po aerobní kultivaci na M17 agaru s glukózou



Obrázek č. 10: *Lactococcus lactis ssp. lactis* po aerobní kultivaci v M17 bujonu s glukózou, barveno podle Grama, zvětšení 10x100

(http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

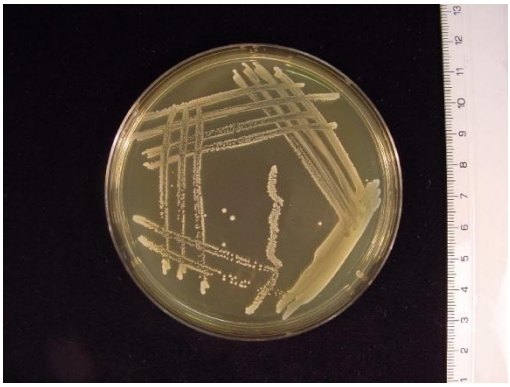
Lactococcus lactis ssp. cremoris

Buňky jsou kulovitého tvaru, tvořící řetízky. Bakterie, které jsou pěstované v mléku, tvoří dlouhé řetízky. Teplotní optimum je 28 ^{o}C, ale snese také teploty v rozmezí 10-40 °C.

Tyto bakterie jsou příbuzné s bakteriemi rodu *Lactococcus lactis ssp. lactis*. Liší se od sebe některými vlastnostmi, například: *Lactococcus lactis ssp. cremoris* produkují

menší množství CO_2 a doba fermentace laktózy je u něj delší (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Obrázek č. 11: *Lactococcus lactis ssp. cremoris* po aerobní kultivaci na M17 agaru s glukózou



Obrázek č. 12: *Lactococcus lactis ssp. cremoris* po aerobní kultivaci na M17 agaru s glukózou barveno podle Grama, zvětšení 10x100

(http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm)

5.4 Požadavky na vlastnosti probiotických bakterií

5.4.1 Zdravotní požadavky

Kmeny bakterií s probiotickým účinkem musí mít:

- schopnost kolonizovat tračník a přilnout ke střevní sliznici. Tím zamezují adhezi patogenních mikroorganismů,
- tvořit bakteriostatické a baktericidní látky,
- regulovat funkci střevní bariéry a mikrobiální translokace,
- modulovat funkci střevních epitelů a dendritických buněk,
- ovlivňovat lokální a systémové imunity,
- zabraňovat přerůstání patogenů,

- stimulovat eliminaci toxinů,
- tvořit steroidy z cholesterolu,
- ovlivnit sekreci hlenu, vstřebávání, motility a průtoku krve splanchnikem,
- příznivě působit na zdravotní stav (FRIČ, 2005).

5.4.2 Mikrobiologické požadavky

Kmeny bakterií s probiotickým účinkem musí být:

- humánního původu, neboť některé účinky probiotických bakterií vedoucí k podpoře zdraví mohou být u různých živočišných druhů jiné,
- možnost přesného taxonomického zařazení, podrobné definice a typizace,
- netoxické a nepatogenní,
- geneticky stabilní,
- odolné vůči působení kyselin, žluči a pankreatických šťáv,
- potenciálně rezistentní proti antimikrobiálním substancím původní mikroflóry příjemce (FRIČ, 2005).

5.4.3 Technologické požadavky

Kmeny bakterií s probiotickým účinkem musí:

- zachovávat životaschopnost,
- po fermentaci si ponechat dobré organoleptické vlastnosti (chuť, vůni),
- během skladování dodržovat mírnou kyselost,
- během produkce a skladování si zachovat schopnost kolonizace,
- ve kvašených výrobcích být během skladování stabilní,
- po sušení být stabilní,
- přesná identifikace kmenů,
- je třeba znát údaje o účincích, které se určují dle dávky (KVASNIČKOVÁ, 2000).

5.4.4 Legislativní vymezení probiotik

V ČR je používání probiotik vymezeno Vyhláškou č. 225/2008 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin (Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 225/2008 Sb.).

6. PREBIOTIKA

Prebiotika jsou nestravitelné látky obsažené v potravinách, které selektivně podporují růst nebo aktivitu určitých střevních bakterií. Pozitivně tím ovlivňují složení střevní mikroflóry a vykazují tak celkový příznivý vliv na zdraví a pohodu konkrétního jedince (NEVORAL, 2005).

Prochází trávicím traktem až do tlustého střeva, cestou nejsou natrávena trávicími enzymy tenkého střeva. K jejich rozštěpení dochází až pomocí bakterií tlustého střeva. Prebiotika jsou hydrolyzována na základní stavební jednotky, které jsou nezbytné pro výživu kolonocytů a mikrobiální flóry.

Řadí se mezi ně oligosacharidy (hlavně frukto-oligosacharidy, galakto-oligosacharidy a laktóza), inulin, laktitol a některé polysacharidy (JIRÁSEK, 2003).

Důkazy o zdraví prospěšných vlastnostech prebiotik pocházejí z *in vitro* studií na zvířatech. Prebiotika jsou v tlustém střevě fermentována a zvyšují produkci mastných kyselin s krátkým řetězcem. Tyto mechanismy vedou ke zlepšování funkce střev, zvýšení absorpce minerálií (hlavně vápníku, ovlivňují tak metabolismus například železa, hořčíku nebo zinku), ke změně metabolismu lipidů a snížení rizika kolorektálního karcinomu (http://www.sci.muni.cz/mikrob/mikrofloraGIT/tluste%20strevo/tluste%20strevo.htm).

Při studiích na zvířatech o přijmu FOS (frukto-oligosacharidy) bylo pozorováno snížené riziko vzniku cukrovky, zlepšení činnosti jater a posílení imunitního systému.

Nejlépe je prozkoumáno prebiotické působení frukto-oligosacharidů, které stimulují hlavně růst bakterie *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* a potlačují tak růst mnoha patogenů, například z rodů *Clostridium, Veillonella,* a *Klebsiella* a druhu *E. coli.*

Z výsledků klinických studií na dobrovolnících vyplynulo, že při podání 1-20 g FOS dochází k typickému zhruba desetinásobnému vzrůstu populace bakterie *Bifidobacterium.* Doporučené dávky jsou 4 g/den, optimum 7-8 g/den, ale nedoporučuje se vyšší příjem než 20-30 g/den vzhledem k vyšší flatulenci a laxativním účinkům FOS (http://www.sci.muni.cz/mikrob/mikrofloraGIT/funkcnipotrav/odk1.htm).

7. SYNBIOTIKA

Synbiotika jsou definována jako kombinace probiotik a prebiotik, tj. zdraví prospěšných bakteriálních kultur a nestravitelné části potravy, která slouží jako substrát pro jejich růst.

Způsobují selektivní stimulaci růstu a aktivity metabolismu jednoho nebo limitovaného množství bakterií, které podporují zdraví (NEVORAL, 2005).

Jejich název vznikl od výrazu synergismus, což znamená, že zdravotní přínos kombinace obou účinných látek je větší než součet přínosů každé z nich, aplikované samostatně. Přednostně se doporučují pro kojence a starší osoby (KALAČ, 2003). Nesprávně se někdy uvádí symbiotika, avšak o žádnou symbiózu v tomto případě nejde.

8. PRODUKTY S OBSAHEM PROBIOTIK

8.1 Probiotické preparáty

Využívají se lyofilizované kultury složené z jednoho nebo více druhů probiotických bakterií. Jsou vyráběny ve formě kapslí, tobolek nebo tablet. Preparáty jsou strukturovány tak, že ochranná vrstva zabraňuje působení žaludečních kyselin a trávicích enzymů na mikroorganismy (STEER, CARPENTER, TUOHY, GIBSON, 2000).

V praxi se využívají přípravky jednosložkové nebo kombinované.

Jednosložkové přípravky obsahují bakterie jednoho kmenu, patří sem například: Escherichia coli Nissle 1917, Lactobacillus reuteri, L. rhamnosus, L. casei, L. bulgaricus, Lactobacillus GG, L. plantarum, L. acidophilus, Bacillus subtilis, Bifidobacterium longum či breve, B.infantis, Leuconostoc mesenteroides, Streptococcus thermophillus a další. Používá se také kvasinka Saccharomyces boulardii.

Výhodou jednosložkových přípravků je, že existuje více znalostí o jejich genomu a jejich účincích, naopak ale není známo, jak se budou navzájem ovlivňovat jednotlivé kmeny probiotických bakterií.

Kombinované přípravky obsahují různé kmeny: laktobacilů, bifidobakterií, streptokoků, popřípadě další. Tyto přípravky často obsahují také prebiotické složky. To je výhodou oproti jednosložkovým přípravkům, které prebiotickou složku nemají a tak

může dojít, vzhledem ke genetickým dispozicím, ke stavu, že každý hostitel může na přísun probiotik reagovat rozdílně. Buď tak, že je využije, nebo se jim může bránit. Proto mají kombinované přípravky větší šanci ovlivnit hostitele.

Byla provedena zajímavá studie ověřující formu podání probiotik - zda je lepší je užívat jako léčivé preparáty, nebo ve funkčních potravinách. Tato studie se prováděla se samostatně podávanou probiotickou formu *Bifidobacterium animalis lactis* oproti podání funkční potraviny jogurtu Activia, která obsahovala tutéž mikroflóru. Výsledek testu jednoznačně ukazoval pro podání komplexní potraviny s bakteriemi mléčného kvašení, probiotickými bakteriemi i s mléčnou složkou (KOHOUT, 2010).

8.2 Funkční potraviny

Funkční potraviny jsou charakterizovány jako potraviny, u kterých je mimo jejich nutriční hodnotu, dostatečně prokázán příznivý účinek na jednu či více cílových funkcí v organismu, jež zlepšují fyzický i duševní zdravotní stav anebo přispívají ke snížení rizika vzniku určitých onemocnění (CONTOR, 2001).

8.2.1 Legislativa

V ČR zatím není legislativní rámec ohledně funkčních potravin zdaleka dořešen. Kontrolu provádí Česká zemědělská a potravinářská inspekce, která určuje, jaká potravina smí být nositelem tohoto označení. Tyto potraviny procházejí speciálními testy a podrobují se zkouškám podobným lékovým studiím (http://www.klinikazdravi.cz/style=print/novinky/legislativa/vite-co-jsou-to-funkcni-potraviny/).

V rámci EU také dosud neexistuje žádný legislativní předpis, který by upravoval uvádění potravin a potravinových doplňků s cíleně přidanými mikroorganismy na trh.

V roce 2003 vypracovala pracovní skupina evropského Vědeckého výboru návrh k hodnocení bezpečnosti mikroorganismů používaných v potravinách. Jde o systém posuzování, který by umožnil tzv. kvalifikovaný předpoklad bezpečnosti.

Orientaci v záplavě produktů, kde výrobce deklaruje přítomnost probiotik, usnadňuje doporučení FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization) o údajích, které by vždy měly být k dispozici na obalu výrobku (KOKEŠOVÁ, 2009).

8.2.2 Povinné údaje na obalu výrobků s obsahem probiotik

Na obalu musí být označen:

- rod, druh a kmen probiotických mikroorganismů,
- minimální množství mikroorganismů (v 1 g či ml) na konci doby trvanlivosti,
- doporučená dávka, která obsahuje množství probiotika zajišťující účinek,
- zdravotní tvrzení,
- podmínky uchování,
- kontaktní údaje, kde jsou k dispozici detailní informace o výrobci (KOKEŠOVÁ, 2009).

8.2.3 Minimální množství probiotických mikroorganismů ve výrobcích

Jednou z podmínek pro správnou funkci probiotik, aby byli zdraví prospěšné, je jejich správná koncentrace v daném výrobku.

Optimální množství v potravinách a výrobcích se pohybuje v rozmezí 10^8-10^9KTJ/g, někteří autoři uvádí dokonce množství až 10^{10}KTJ/g. Tyto uvedené hodnoty musí výrobek označený jako „probiotický“ nebo „s obsahem probiotik“ dosahovat i v den končící trvanlivosti. Pokud by došlo k výraznému poklesu počtu bakterií, nebyl by dosažen požadovaný zdravotní účinek (LOURENS-HATTING, VILJOEN, 2001).

8.2.4 Nejčastější druhy funkčních potravin

- potraviny, kde jsou přidány složky, které mají příznivý vliv na lidské zdraví. Příkladem jsou probiotika a prebiotika v mléčných zakysaných výrobcích.
- potraviny, kde jsou odstraněny složky, které mají nepříznivý vliv na lidské zdraví. Příkladem jsou *trans*-mastné kyseliny ve ztužených pokrmových tucích.
- potraviny, ve kterých některé přirozeně se vyskytující složky jsou chemicky modifikovány. Příkladem je hydrolýza bílkovin v kojenecké výživě ke snížení možné alergenity.
- potraviny, kde biologická dostupnost jedné nebo více složek je zvýšena (WINKLEROVÁ, 2009).

Funkční potraviny tvoří jakousi přechodnou skupinu mezi standardními potravinami a léky. Měly by se konzumovat v podstatě celý život, jako součást denní stravy, protože působí jako prevence proti nejrůznějším chorobám a onemocněním (KALAČ, 2003).

8.3 Mléčné produkty s probiotickými bakteriemi

8.3.1 Fermentované mléčné výrobky

Podle Vyhlášky Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb. se jako fermentovaný mléčný výrobek označuje výrobek, který je získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi za použití bakterií mléčného kvašení, tepelně neošetřený po kysacím procesu. Tato vyhláška též stanovuje pro jednotlivé skupiny kysaných mléčných výrobků množství bakterií použité mikrobiální kultury.

8.3.1.1 Sortiment fermentovaných mléčných výrobků

- jogurt (nízkotučný nebo odtučněný, se sníženým obsahem tuku, smetanový),
- jogurtové mléko,
- acidofilní mléko,
- kefír,
- kefírové mléko,
- kysané mléko nebo smetanový zákys,
- kysaná nebo zakysaná smetana,
- kysané podmáslí,
- kysané mléčné výrobky s bifidokulturou (Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb.).

8.3.1.2 Fermentované mléčné výrobky s termofilními kulturami

Patří sem především jogurty a jogurtová mléka. Jogurtová kultura obsahuje bakterie: *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* v poměru 1:1. Ve finálním výrobku musí být podle výše uvedené vyhlášky koncentrace živých mikroorganismů 10^7 v 1g.

Jogurtové výrobky mohou kromě základní jogurtové kultury obsahovat navíc i probiotické kultury (GAJDŮŠEK, 2000).

8.3.1.3 Fermentované mléčné výrobky s mikroorganismy *Lactobacillus acidophillus* nebo *Bifidobacterium bifidum*

Acidofilní mléko – je vyráběno z 1 dílu pasterovaného mléka, které je zahřáno na 37-40 °C a zaočkováno 1-2% kultury *Lactobacillus acidophillus* a z 9 dílů pasterovaného mléka zakysaného smetanovým zákysem. Ke smetanovému zákysu se využívá kultur

Lactococcus lactis ssp. lactis, Lactococcus lactis ssp. cremoris, Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetilactis, Leuconostoc mesenteroides ssp. dextranicum, Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris.

Kysaný mléčný nápoj – je vyráběn z 1 dílu mléka, které je zakysáno pomocí bakterie *Lactobacillus acidophillus* a z 9 dílů pasterovaného mléka zakysaného probiotickými kulturami *Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum a Pediococcus acidolacti.* Podle výše uvedené vyhlášky musí mléčná mikroflóra výrobku obsahovat koncentraci živých kultur *Lactobacillus acidophillus* v počtu 10^6 v 1g.

Kysané podmáslí **–** podmáslí vzniká jako vedlejší produkt při výrobě másla a následně je fermentováno smetanovým zákysem. K zaočkování se používá jogurtová kultura společně s kulturami *Bifidobacterium bifidum a Bifidobacterium longum* (DRAGOUNOVÁ, 2003).

Některé mléčné výrobky je možné během výroby obohatit o prebiotika, která přispívají k růstu bifidobakterií a zvyšují stabilitu bifidobakterií během skladování výrobku (LOURENS-HATTINGH, VILJOEN, 2001).

8.3.1.4 Fermentované mléčné výrobky s bakteriemi mléčného kysání a kvasinek

Tyto výroky obsahují smíšenou kulturu mléčných bakterií a kvasinek. Probíhá zde mléčné kvašení, při němž je laktóza rozkládána na kyselinu mléčnou a současně vzniká ethanol a oxid uhličitý (alkoholové kvašení). Oxid uhličitý dodává výrobkům mírně štiplavou chuť, pěnivou konzistenci a příznivě působí na vylučování žaludečních šťáv v trávicím traktu. Obsah alkoholu závisí na délce zrání. Po 48h při 20 °C je obsah alkoholu 0,5-0,9 % (INGR, 2003).

Kefír a kefírové mléko – K přípravě kefíru se využívá kultura buď ve formě kefírových zrn, nebo se používají čisté směsné kultury. Základem kefírové kultury jsou *Lactobacillus acidophillus, Lactobacillus delbrueckii a Lactobacillu kefir,* kvasinky *Kluyveromyces marxianus var. marxianus a Candida kefir*. Tato směsná kultura se míchá se smetanovou aromatickou kulturou, která obsahuje bakterie *Lactococcus lactis ssp. cremoris, Lactococcus lactis biovar diacetilactis.*

Kefír má dle výše uvedené vyhlášky obsahovat bakterie mléčného kvašení v koncentraci 10^6 v 1g a kvasinky v koncentraci 10^4 v 1g. Kefírové mléko má obsahovat bakterie mléčného kvašení v koncentraci 10^6 v 1g a kvasinek v koncentraci 10^2 v 1g (DRAGOUNOVÁ, 2003).

8.3.1.5 Zakysané smetany

Smetany jsou zakysané smetanovým zákysem v množství 1-2 % a v expedičních obalech inkubované při teplotě 18-23 °C 16 hodin. Do krémových smetan je před zakysáním přidáván škrob. Podle druhu se může lišit obsah tuku od 12 do 40 % (GAJDŮŠEK, 2000).

Druhy a minimální počty živých mikroorganismů v kysaných mléčných výrobcích
(Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb.)

DRUH VÝROBKU	POUŽITÍ MIKROORGANISMŮ	MLÉČNÁ MIKROFLÓRA VÝROBKU V 1g
Acidofilní mléko	*Lactobacillus acidophilus* a další mezofilní, příp. termofilní kultury bakterií mléčného kvašení	10^6
Jogurty	protosymbiotická směs *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*	10^7
Kysané mléko, vč. smetanového zákysu, podmáslí a kysané smetany	monokultury nebo směsné kultury bakterií mléčného kvašení	10^6
Kefír	zákys připravený z kefírových zrn, jehož mikroflóra se skládá z kvasinek zkvašujících laktózu *Kluyveromyces marxianus* i nezkvašujících laktózu *Saccharomyces unisporus, Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces exignus* a dále *Leuconostoc, Lactococcus* a *Aerobacter*, rostoucí ve vzájemném společenství	bakterie mléčného kvašení 10^6 a kvasinky 10^4
Kefírové mléko	zákys skládající se z kvasinkových kultur rodu *Kluyveromyces, Torulopsis* nebo *Candida valida* a mezofilních a termofilních kultur bakterií mléčného kvašení v symbióze	bakterie mléčného kvašení 10^6 a kvasinky 10^2
Kysaný mléčný výrobek s bifido-kulturou	*Bifidobacterium sp.* v kombinaci s mezofilními a termofilními bakteriemi mléčného kvašení	10^6 bifidobakterie

8.3.2 Zmrzlina a mražené dezerty

Zmrzlina a mražené dezerty jsou dobrými potenciálními nosiči pro probiotické bakterie. Začleněním probiotik do zmrzliny je velmi výhodné, protože kromě toho, že může být řazena mezi funkční potraviny, obsahuje ještě navíc prospěšné látky, jako jsou mléčné suroviny, vitamíny, minerální látky a je s oblibou konzumována spotřebiteli (MOHAMMADI, MORTAZAVIAN, KHOSROKHAVAR, 2011).

Používají se různé směsi laktobacilů a bifidobakterií. Začlenění může být přímé, a to zamícháním probiotik do zmrzliny ještě před zmrazením, nebo proces vyžaduje fermentaci mléka a namnožení buněk před smícháním se zmrzlinou. V tomto případě je navíc nutná ochrana buněk před zničením mrazem (TAMIME, 2005).

Ke ztrátám životaschopnosti probiotik může dojít působením jednotlivých složek, které výrobek obsahuje, vlivem procesu zpracování, skladování a tání. V těchto fázích jsou probiotické buňky předmětem různých namáhání souvisejících s kyselostí, s oxidačně-redukčním potenciálem, zmrazením, obsahem cukru, osmotickým tlakem a mechanickým namáháním. Míra ztráty probiotik je větší během procesu mrazení než skladování.

Doplnění zmrzliny o probiotika má jen malý vliv na její chuť, texturu a další smyslové vlastnosti (MOHAMMADI, MORTAZAVIAN, KHOSROKHAVAR, 2011).

Byla hodnocena účinnost bakterií *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus rhamnosus* v nefermentované zmrzlině na spotřebitele. Oba mikroorganismy přežily skladování 12 týdnů při -19 °C. Přídavek mikroorganismů měl jen nepatrný vliv na viskozitu, tvrdost, tání, kyselost a smyslové vlastnosti hotového produktu. Byla rovněž testována odolnost probiotických bakterií vůči žaludeční kyselině a účinkům žluči, a to nejprve čerstvých buněk před inokulací zmrzliny, poté po inokulaci zmrzliny a uchování 12 týdnů v mrazírenských skladech. Odolnost *Lactobacillus rhamnosus* ve zmražené a následné rozmražené zmrzlině nebyla nijak odlišná ve srovnání s čerstvými buňkami, zatímco *Lactobacillus acidophilus* byl náchylnější vůči podmínkám zmrazení. Vliv žaludeční kyseliny na přežití bakterií nebyl nijak významný (ABGHARI, SHEIKH-ZEINODDIN, SOLEIMANIAN-ZAD, 2011).

9. ZÁVĚR

Probiotické mikroorganismy mají ve výživě lidí důležité postavení, blahodárně působí na zdraví konzumenta. Převážně vedou ke správnému složení střevní mikroflóry a příznivě působí na funkci imunitního systému.

Výzkum účinků na zdraví hostitele se zaměřuje na prevenci i léčbu infekčních průjmových onemocnění, respiračních onemocnění, recidivujících močových infekcí, regulaci koncentrace cholesterolu nebo na obnovení přirozené střevní mikroflóry, která byla narušena například při léčbě antibiotiky nebo chemoterapeutiky. Ve většině případů byly prokázány pozitivní výsledky působení probiotických mikroorganismů.

Existují různé produkty s obsahem probiotik. Farmaceutické preparáty ve formě kapslí, tobolek nebo tablet, které se liší četností obsažených bakterií i počtem kmenů.

Další skupinou jsou funkční potraviny, mezi nimiž jsou nejvíce zastoupeny fermentované mléčné výrobky. Výsledky několika studií prokázaly, že účinnější pro zdraví je podání komplexní potraviny s bakteriemi mléčného kvašení, probiotickými bakteriemi i s mléčnou složkou než léčivých preparátů.

Konzumace produktů s obsahem probiotik je doporučena všem, i dětem a těhotným ženám.

Ve většině případů probiotika nedokáží kolonizovat trávicí trakt hostitele, a proto je důležité je užívat dlouhodobě nebo trvale.

10. SEZNAM LITERATURY

10.1 Odborné publikace

1. ABGHARI, A., M. SHEIKH-ZEINODDIN a S. SOLEIMANIAN-ZAD. Nonfermented ice cream as a carrier for Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus rhamnosus. *International journal of food science and technology*. 2011, s. 84-92. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2010.02453.x.
2. COLLADO M. C., E. ISOLAURI, S. SALMINEN, Y. SANZ. *The impact of probiotic on gut health*. Curr. Drug. Metab. 2009, 10, s. 68-78.
3. CONTOR L. *Functional food science in Europe.* Nutr. Metab. Cardiovasc. 2001. Dis. 11, s. 20-23.
4. DRAGOUNOVÁ, H. *Hodnocení jakosti mléka a mlékárenských výrobků*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2003. ISBN 80-86642-24-0.
5. FERENČÍK, M. *Imunitní systém-informace pro každého.* Praha: Grada Publishing 2005, s. 198-199, ISBN 80-247-1196-6
6. FRIČ, P. Probiotika v terapii chorob trávicího ústrojí. *Interní medicína pro praxi*. 2005, č. 10, s. 434-437. Dostupné z: http://www.internimedicina.cz
7. GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2000. ISBN 80-7157-342-6.
8. GÖRNER, F., L. VALÍK. *Aplikovaná mikrobiológia poživatin*. Bratislava: Malé centrum, 2004. 262 s. ISBN 80-967064-9-7.
9. GUANDALINI, S. Probiotics for Prevention and Treatment of Diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2011, s. 149-153. DOI: 10.1097/MCG.0b013e318230928b.
10. GUEIMONDE, M., S. SALMINEN. *Probiotics. In encyclopedia of Human nutrition.* Hardbound: Academic press 2005. vol. 3, s. 244-245, ISBN-10:0-12-150110-8
11. HAUKIOJA A. *Probiotics and oral health.* Eur. J. Dent. 4, 2010, s. 348-355.
12. JIRÁSEK, V. *Funkční poruchy trávicího traktu*. Praha: Grada, 2003. 198 s. ISBN 80-247-0296-7.
13. KALAČ, P. *Funkční potraviny : kroky ke zdraví*. České Budějovice : Dona, 2003. 130 s. ISBN 80-7322-029-6.

14. KOHOUT, P. Probiotika, historie a současnost. *Medicina po promoci*. 2010, č. 2. Dostupné z: www.tribune.cz
15. KOKEŠOVÁ, A. Imunomodulační účinky probiotik v klinické praxi. *Pediatrie pro praxi*. 2009, č. 3. Dostupné z: www.pediatriepropraxi.cz
16. KVASNIČKOVÁ A. *Sacharidy pro funkční potraviny*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2000, s. 31-45. ISBN 80-7271-001.
17. KREJSEK, J., M. KUDLOVÁ a M. KOLÁČKOVÁ. Nutrice, probiotika a imunitní systém II. část: nutrice, přirozená slizniční mikroflóra a individuální imunitní reaktivita. *Pediatrie pro praxi*. 2007, č. 3, s. 156-162. Dostupné z: www.pediatriepropraxi.cz
18. LOURENS-HATTINGH, A., B. VILJOEN. *Yogurt as probiotic carrier food*. International Dairy Journal, 2001, 11, s.1-17.
19. MOHAMMADI, R., A. M. MORTAZAVIAN a R. KHOSROKHAVAR. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Annals of microbiology*. 2011, s. 411-424. DOI: 10.1007/s13213-010-0188-z.
20. NEVORAL, J. Probiotika, prebiotika a synbiotika. *Pediatrie pro praxi*. 2005, č. 2, s. 59-65. Dostupné z: www.pediatriepropraxi.cz
21. OOI L. G., M. T. LIONG. *Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings.* Int. J. Mol. Sci. 2010, 11, s. 2499-2522.
22. RADA, V. Probiotika, prebiotika a synbiotik. *Potravinářská revue.* 2008, č. 2, str. 15-16
23. SAXELIN M., S. TYNKKYNEN, T. MATTILA-SANDHOLM, M. de VOSW. *Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms.* Curr. Opin. Biotechnol. 2005, 16, s. 204-211.
24. STEER, T., H. CARPENTER, K. TUOHY, R. GIBSON. Perspectives on the role of the human gut microbiota and its modulation by pro and prebiotics. *Nutrition Research Reviews*. 2000, 13, s. 229-254
25. TAMINE A. Y. *Probiotic Dairy Products*. Oxford: Blackwell Publishing, 2005, 215 s.

26. VILLENA, J., M. L. S. OLIVEIRA a C. D. FERREIRA PATRICIA. Lactic acid bacteria in the prevention of pneumococcal respiratory infection: Future opportunities and challenges. *International immunopharmacology*. 2011, s. 1633-1645. DOI: 10.1016/j.intimp.2011.06.004.
27. Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb.
28. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 225/2008 Sb.
29. WINKLEROVÁ, D. Funkční potraviny a legislativa. *Výživa a potraviny*. 2009, č. 1. Dostupné z: www.vyzivaspol.cz
30. ZBOŘIL, V. *Mikroflóra trávicího traktu:klinické souvislosti.* Praha: Grada, 2005, s. 15, 86-87, ISBN 80-247-0584-2

10.2 Elektronické zdroje:

1. BARTOŠOVÁ, L. Účinky živých bakterií v potravinách. [online]. 30.6.2009. Dostupné z: www.szpi.gov.cz. Staženo 10.3.2012
2. Imunita, imunitní systém [online]. Dostupné z: www.colostrum-info.cz/imunita. Staženo 9.2.2012.
3. Víte, co jsou to funkční potraviny?. *Klinika zdraví* [online]. 7.3.2009. Dostupné z: http://www.klinikazdravi.cz/style=print/novinky/legislativa/vite-co-jsou-to-funkcni-potraviny. Staženo 6.2.2012.
4. Mikroflóra tlustého střeva. *Mikrobiology* [online]. 18.10 2005. Dostupné z: http://www.sci.muni.cz/mikrob/mikrofloraGIT/tluste%20strevo/tluste%20strevo.htm. Staženo 30. 10. 2011.
5. Prebiotika. *Microbiology* [online]. 18.10.2005. Dostupné z: http://www.sci.muni.cz/mikrob/mikrofloraGIT/funkcnipotrav/odk1.htm. Staženo 9.11.2011.
6. Miniatlas mikroorganismů [online]. 12.7.2011. Dostupné z: http://www.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm. Staženo 19.9.2011.