

Prohlášení

Diplomová práce s názvem „Stanovení probiotických mikroorganismů ve vybraných kysaných mléčných produktech.“ (Determination of probiotic bacteria in selected fermented milk products.) nemůže být vložena do systému STAG vzhledem ke skutečnosti, že zveřejnění dat obsažených ve výše zmíněné práci v dubnu 2014 by bránilo publikování těchto dat ve vědeckém časopisu.

Diplomová práce bude v tištěné podobě k dispozici v Akademické knihovně JU.

Vedoucí diplomové práce

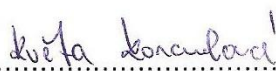
doc. Ing. Eva SAMKOVÁ, Ph.D.



.....

Autor diplomové práce

Bc. Květa Korandová



.....

Vedoucí katedry

doc. Ing. Miroslav MARŠÁLEK, CSc.



.....

V Českých Budějovicích, dne 25. 4. 2014

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Živočišné biotechnologie

Katedra: Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

Vedoucí katedry: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Stanovení probiotických mikroorganismů ve vybraných kysaných mléčných produktech

(Determination of probiotic bacteria in selected fermented milk products)

Vedoucí diplomové práce:	doc. Ing. Eva SAMKOVÁ, Ph.D.
Konzultant diplomové práce:	MVDr. Lucie HASOŇOVÁ, Ph.D.
Autor diplomové práce:	Bc. Květa KORANDOVÁ

České Budějovice, 2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Květa KORANDOVÁ**
Osobní číslo: **Z12725**
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Živočišné biotechnologie**
Název tématu: **Stanovení probiotických mikroorganismů ve vybraných kysaných mléčných produktech**
Zadávací katedra: **Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Kysané mléčné produkty patří mezi oblíbené mléčné výrobky. Podle současné platné legislativy musí obsahovat živé mikroorganismy v přesně definovaném množství, a to po celou dobu deklarované spotřeby.

Cílem práce bude sledovat zastoupení probiotických mikroorganismů ve vybraných kysaných mléčných produktech a posoudit zjištěné hodnoty s požadavky legislativy.

Diplomová práce bude zpracována na základě zásad zpracování závěrečných prací uvedených na http://www.zf.jcu.cz/copy_of_students/informace-pro-studujici/dokumenty-studijniho-oddeleni/informace-pro-studujici/Jak_vypracovat_DP.pdf podle následující rámcové osnovy:

1. **Úvod** - charakteristika a význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce
2. **Literární přehled** - současný stav poznání dané problematiky získaný studiem soudobé vědecké a odborné literatury
3. **Materiál a metodika** - popis použitých analytických metod včetně metod statistických
4. **Výsledky a diskuse** - tabulkové a grafické zpracování získaných dat navazující na cíl práce, jejich statistické vyhodnocení a porovnání s dostupnými literárními údaji
5. **Závěr** - stručné shrnutí výsledků vlastní práce, návrhy a doporučení vyplývající z řešené problematiky
6. **Summary** - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
7. **Seznam literatury** - jednotný, podle platných citačních zásad.

Rozsah grafických prací: tabulky a grafy dle potřeby

Rozsah pracovní zprávy: 35-50 stran textu

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- SACCARO D.M. et al.: The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4 degrees C. Int. J. Dairy Techn., 2009, 62 (3): 397-404.
- SHAH N.P.: Probiotic Bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. J. Dairy Sci., 2000, 83 (4): 894-907.
- SCHARL M. et al.: Dying in yoghurt: the number of living bacteria in probiotic yoghurt decreases under exposure to room temperature. Digestion, 2011, 83 (1-2): 13-17.
- ŠILHÁNKOVÁ L.: Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. vyd. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN: 80-200-1024-6.
- Databáze WOS, Česká zemědělská bibliografie, CAB Abstracts, PROQUEST, dostupné na: <http://www.lib.jcu.cz/cs/databaze>
- Vědecké a odborné články v časopisech a sbornících: př. Výživa a potraviny, Mlékařské listy aj.
- Vyhláška MZe č.77/2003, kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Částka: 32/2003 Sb.

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.


Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů

Konzultant diplomové práce: MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů

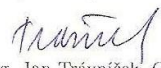
Datum zadání diplomové práce: 26. března 2013

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2014


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.

děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentů 13 ④
370 05 České Budějovice


prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 26. března 2013

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích 25. 4. 2014

.....

Bc. Květa Korandová

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych chtěla především poděkovat paní Ing. Haně Leherové za umožnění provedení experimentální části práce ve společnosti “AGRO-LA“ spol. s.r.o. v Jindřichově Hradci a také za ochotu, čas a pomoc při provedení této praktické části.

Dále bych ráda poděkovala své vedoucí diplomové práce paní doc. Ing. Evě Samkové, Ph.D. za cenné připomínky, rady a odbornou pomoc při zpracování a řešení mé diplomové práce.

A samozřejmě děkuji mé rodině za podporu.

ABSTRAKT

Cílem práce bylo sledovat zastoupení probiotických mikroorganismů ve vybraných kysaných mléčných produktech. Pro stanovení kmenů *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* a rod *Bifidobacterium* byly vybrány z tržní sítě 3 vzorky bílých jogurtů, u kterých výrobce deklaroval přítomnost bifidobakterií.

Literární rešerše vysvětluje problematiku probiotických mikroorganismů a pojednává o procesu fermentace, fermentovaných mléčných výrobcích, a především o fermentovaném mléčném výrobku jogurtu.

V experimentální části je tato práce zaměřena na vyhodnocení mikrobiologických analýz a kyselosti vybraných jogurtů v závislosti na vzorcích a doby skladování. Zjištěné výsledky ukázaly, že počet živých bakterií kmenů *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* splňovaly legislativní požadavky, zatímco počet bakterií rodu *Bifidobacterium* mohl být ovlivněn různými faktory, které zapříčinily, že dle výsledků v této práci, u některých vzorků nebyl dostatečný počet těchto bakterií.

Klíčová slova: probiotické mikroorganismy, fermentované mléčné výrobky, jogurt, životaschopnost bakterií, kyselost, skladování.

ABSTRACT

The aim of the thesis was to monitor presence of probiotic microorganisms in representative fermented dairy products. Three samples of white yoghurt available in the market, in which the manufacturer declared presence of bifidobacteria, were chosen for determination of strains of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* and the genus of *Bifidobacterium*.

Bibliographic research deals with explanation of the wider context of probiotic microorganisms and the process of fermentation, fermented dairy products and in particular of yoghurt as one type of fermented dairy products.

In the experimental part, the thesis focusses on evaluation of microbiological analyses and pH of selected yoghurts in relation to the samples and storage time. The results show that the number of live bacteria of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* strains complied with the statutory requirements, while the number of bacteria of *Bifidobacterium* genus could have been affected by various factors which caused that according to the results of the work, certain samples lacked the sufficient numbers of these bacteria.

Key words: probiotic microorganisms, fermented dairy products, yoghurt, bacteria viability, acidity, storage.

Obsah

1. ÚVOD	10
2. LITERÁLNÍ PŘEHLED	11
2.1 Probiotické mikroorganismy a jejich význam.....	11
2.2 Fermentace mléka	14
2.2.1 Produkce vitamínů skupiny B	15
2.2.2 Produkce bioaktivních peptidů.....	16
2.3 Fermentované mléčné výrobky	17
2.4 Jogurt.....	19
2.4.1 Výroba jogurtu	19
2.4.2 Rozdělení jogurtů	23
2.4.3 Jogurty s obsahem probiotických mikroorganismů	23
2.4.4 Životaschopnost probiotických mikroorganismů v jogurtech	24
3. SEZNAM LITERATURY	31

1. ÚVOD

Probiotické mikroorganismy jsou důležité ve výživě člověka, pozitivně působí na jeho zdravotní stav, především na složení střevní mikroflóry, která má klíčovou úlohu při vytváření funkčního imunitního systému. Proto je jejich využití v potravinách velice opodstatněné.

Tato práce je zaměřena na probiotické bakterie obsažené ve fermentovaných mléčných výrobcích, které vznikají fermentací mléka, což je proces kysání, ve kterém je mléčný cukr laktóza hydrolyzován na monosacharidy glukózu a galaktózu. Významným fermentovaným mléčným produktem je jogurt - vyvážená, lehce stravitelná, zdraví prospěšná potravina, která je zdrojem plnohodnotných bílkovin, vápníku, fosforu a různých vitamínů především ze skupiny B.

Cílem této práce bylo sledovat zastoupení probiotických mikroorganismů (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* a *Bifidobacterium*) ve vybraných kysaných mléčných produktech (bílé jogurty) po ukončení zracího procesu.

2. LITERÁLNÍ PŘEHLED

2.1 Probiotické mikroorganismy a jejich význam

Pojem „probiotic“ se začal užívat od roku 1965, pochází z řeckého slova „*pro bios*“, které znamená „pro život“ (SUCHÁNEK, 2006).

V současnosti nejčastěji používanou definicí je definice z roku 1989, jejímž autorem je Roy Fuller. Charakterizoval probiotikum jako živý, mikrobiální, potravinový doplněk, který pozitivně ovlivňuje hostitele zlepšením složení jeho střevní mikroflóry (KOHOUT, 2010).

Pro zařazení mezi probiotika musí jednotlivé bakteriální kmeny splňovat několik základních požadavků. Bakteriální kmeny musí mít prokazatelně pozitivní vliv na zdraví hostitele a musí být zdravotně nezávadné, izolované ze stejného živočišného druhu, jako je předpokládán příjemce, nesmí být toxické ani patogenní. Forma, ve které je probiotikum do trávicího ústrojí aplikováno, musí mít schopnost přežít v trávicím ústrojí a být metabolicky aktivní. Bakterie musí být životaschopné během skladování, důležité jsou i sensorické vlastnosti potraviny nebo potravinového doplňku, ve kterých jsou obsaženy (NEVORAL, 2005).

Sdružená expertní skupina FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization) doporučuje pro výrobky, kde výrobce deklaruje přítomnost probiotik, uvedení některých důležitých údajů, které by vždy měly být k dispozici na obalu produktu. Musí být označen rod, druh a kmen probiotických mikroorganismů, minimální množství mikroorganismů na konci deklarované doby spotřeby, doporučená dávka, která obsahuje množství probiotik zajišťující účinek, podmínky uchování a kontaktní údaje, kde jsou k dispozici detailní informace o výrobci (KOKEŠOVÁ, 2009).

Způsob prokazování prospěšných účinků na zdraví podle směrnice: Pokyny pro hodnocení probiotik, vytvořenou sdruženou expertní pracovní skupinou FAO/WHO doporučuje mimo jiné i Mezinárodní vědecká asociace pro probiotika a prebiotika (ISAPP) a Evropská asociace pro kultury do potravin a krmiv (EFFCA). Principiálním výsledkem studií účinnosti probiotik mají být prokázané prospěšné účinky, jakou jsou statisticky a biologicky významné zlepšení stavu, symptomů, příznaků, pohody a kvality života, snížení rizika onemocnění, rychlejší uzdravení,

a to v prokázané korelaci s testovaným probiotikem (ŠPELINA, WINKLEROVÁ 2009).

Probiotické bakterie mohou příznivě působit na trávicí trakt svou vlastní přítomností tím, 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. Další prospěšné působení spočívá v tvorbě vitamínů a mastných kyselin s krátkým řetězcem (tzn. těkavých mastných kyselin, zejména máselné kyseliny), které slouží jako substrát pro buňky tlustého střeva (kolonocyty) (KOHOUT, 2010). Mezi nejuznávanější příznivé účinky na lidské zdraví patří imunomodulační schopnosti probiotik, neboť mají mimo jiné prospěšný vliv na slizniční systémovou imunitu. Střevní mikroflóra má klíčovou úlohu při vytváření funkčního imunitního systému (ŠPELINA, WINKLEROVÁ, 2009).

Probiotika dokážou obnovit fyziologickou rovnováhu střevní mikroflóry porušenou používáním některých léků nebo konzervantů, barviv a pesticidů, které mohou být obsažené v potravě. K narušení fyziologické rovnováhy může dojít také při nesprávném životním stylu a výživových návycích (KOHOUT, 2010).

Mezi další příznivé účinky patří antimikrobiální aktivita v souvislosti s nejrůznějšími druhy gastrointestinálních infekcí (akutní průjemové onemocnění, průjemové onemocnění spojené s užíváním antibiotik, ozařováním, prevence tzv. cestovních průjmů), dále prevence atopického ekzému, zlepšení trávení laktózy, redukce hladiny sérového cholesterolu, antikarcinogenní účinky, léčení urovaginálních infekcí apod. (HORÁČKOVÁ, ŠVIRÁKOVÁ, 2009).

Probiotické bakterie nekolonizují střevo natrvalo, ale jen dočasně, většinou jsou detekovatelné jen po dobu přijímání potravin s probiotiky (ŠPELINA, WINKLEROVÁ 2009).

Nejčastěji používané rody probiotických bakterií

I když existuje velké množství probiotických mikroorganismů (tabulka č. 1), nejčastěji jsou využívány rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, méně pak druhy *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* a *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* (HORÁČKOVÁ, 2010).

Tabulka č. 1) Přehled nejčastěji využívaných probiotických bakterií (HORÁČKOVÁ, ŠVIRÁKOVÁ, 2009)

Mikrobiální druh	kmen
<i>Bifidobacterium</i>	
<i>longum</i>	B536, SBT-2928
<i>breve</i>	Yakult
<i>bifidus</i>	Bb-11
<i>lactis (animalis)</i>	Bb-01
<i>infantis</i>	Shirota
<i>Lactobacillus</i>	
<i>acidophilus</i>	LA1/LA5, NCFM
<i>delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	Lb 12
<i>paracasei</i>	CRL 431, F19
<i>casei</i>	Shirota, Immunitass
<i>rhamnosus</i>	GG1, GR-1
<i>plantarum</i>	299v
<i>salivarius</i>	UCC118
<i>lactis</i>	La1
<i>reuteri</i>	SD2112
<i>fermentum</i>	RC-14
<i>johnsonii</i>	La1
<i>helveticus</i>	B02
<i>Lactococcus lactis</i>	L1a

Probiotika se na trhu objevují jako léčiva, jako součást doplňků stravy nebo jako součást funkčních potravin (HEUBNER et al., 2007). Jako funkční potraviny jsou označovány 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). Mezi tyto funkční potraviny patří mimo jiné fermentované mléčné výrobky, vznikající fermentací mléka.

2.2 Fermentace mléka

Mléčné kysání je proces, při němž je laktóza rozštěpena bakteriálními laktázami na monosacharidy glukózu a galaktózu. Základním anaerobním katabolickým procesem sacharolytických bakterií je tzv. glykolýza neboli Embden – Meyerhofova metabolická cesta, kdy dochází k přeměně hexóz na pyruvát. Ten je pak dále metabolizován u různých kmenů mikroorganismů odlišným způsobem. Cílem jeho přeměny je vždy současná přeměna redukováného kofaktoru (NADH) ve formu schopnou dehydrogenovat další molekulu substrátu při glykolýze v NAD^+ (MARTH, STEELE, 2001).

U homofermentativních mléčných bakterií je pyruvát redukován za součinnosti NADH na laktát tj. anion mléčné kyseliny. Při tomto kvašení získávají mléčné bakterie volnou energii nezbytnou k růstu v anaerobním prostředí. Množství vzniklé kyseliny mléčné je pak u různých druhů variabilní (MAXA, RADA, 2002).

Heterofermentativní mléčné bakterie na rozdíl od homofermentativních mléčných bakterií neobsahují enzym aldolázu, který štěpí hexóza-1,6-bisfosfát ve dva triosafosfáty. Proto převádějí hexózy oxidačním mechanismem hexózafosfátového zkratu v pentóza-5-fosfát a oxid uhličitý. Tato pentóza-5-fosfát se pak enzymaticky štěpí na acetylfosfát a glycerinaldehyd-3-fosfát. Z acetylfosfátu vzniká za součinnosti NADH etanol. Glycerinaldehyd 3-fosfát je glykolýzou přeměněn v pyruvát a pak na laktát (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Doprovodnou reakcí enzymové hydrolýzy laktózy je transgalaktosylace. β -galaktosidáza katalyzuje přenos galaktosylu, uvolněného po rozštěpení vazby mezi glukózou a galaktózou, na jiný sacharid přítomný v prostředí. V nejjednodušším případě jde o hydrolýzu za vzniku volné galaktózy, v ostatních případech vznikají galaktooligosacharidy, které se v malé míře mohou uplatňovat jako prebiotikum (SAKO et al., 1999).

V trávicím ústrojí se laktóza během fermentačních pochodů hydrolyzuje působením bakteriální β -galaktosidázy na D-galaktózu a D-glukózu, která se dále jejich enzymatickou činností mění na kyselinu mléčnou. Kyselina mléčná se ve fermentovaných mléčných výrobcích vyskytuje ve dvou optických izomerech. Pravotočivá L(+) kyselina mléčná je kompletně v lidském organismu metabolizována, levotočivá D(-) kyselina mléčná se přeměňuje jen omezeně

a pozvolna. *Lactobacillus acidophilus* a bifidobakterie produkují převážně L(+) kyselinu mléčnou, kterou člověk snáze metabolizuje (CUPÁKOVÁ et al., 2002).

Jedním z nejvýznamnějších rodů zkvašující laktózu na kyselinu mléčnou je rod *Lactobacillus*. Podle produktů katabolického metabolismu se rozděluje tento rod na homofermentativní mléčné bakterie, které při zkvašování sacharidů produkují pouze kyselinu mléčnou a heterofermentativní mléčné bakterie, které mimo kyseliny mléčné produkují ještě například kyselinu octovou, etanol, glycerol a CO₂. Mezi homofermentativní druhy rodu *Lactobacillus* patří *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, a *Lactobacillus casei*. Dále sem patří rody *Streptococcus*, *Lactococcus* a rod *Pediococcus*. Mezi heterofermentativní druhy rodu *Lactobacillus* patří *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis* a *Lactobacillus buchneri* a rod *Leuconostoc* (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Během kvašení produkují mikroorganismy řadu sekundárních metabolitů, z nichž některé jsou zdraví prospěšné a to zejména vitamíny skupiny B a bioaktivní peptidy. Nadprodukce vitamínů bakteriemi mléčného kvašení v mléce je velmi atraktivní pro průmyslovou výrobu mléčných fermentovaných výrobků (PETŘÍKOVÁ, 2012).

2.2.1 Produkce vitamínů skupiny B

Většina fermentovaných výrobků obsahuje v porovnání se syrovým mlékem vyšší množství kyseliny listové. Tuto skutečnost lze vysvětlit tak, že některé startovací kultury bakterií, které se používají při mlékárenském kvašení syntetizují foláty *de novo* a vylučují přebytek těchto látek do růstového média. Příkladem jsou startovací jogurtové kultury druhu *Streptococcus thermophilus* a startovací kultura sýrů a kysaných nápojů *Lactococcus lactis*. Například syrové mléko obsahuje 30 – 50 µg/l kyseliny listové a fermentovaný mléčný výrobek jogurt 60 – 100 µg/l kyseliny listové (LE BLANC et al., 2007).

Dále jsou některé bakterie mléčného kvašení schopny produkovat malé množství riboflavinu (vitamín B2) do prostředí růstového média (HUGENHOLTZ et al., 2002). Mezi další vitamíny, které jsou schopny produkovat jen některé mikroorganismy, patří kobalamin (vitamín B12). Příkladem bakteriálního druhu schopného produkovat tento vitamín je *Lactobacillus reuteri* (TARANTO et al., 2003).

2.2.2 Produkce bioaktivních peptidů

Bílkoviny kysaných mléčných výrobků jsou lépe stravitelnější. Kasein je v nich koagulován, většinou dochází ke kaseinolýze. Část mléčných bílkovin se štěpí bakteriálními protézami (polypeptidázy, peptidázy) již při fermentaci na peptidy a volné aminokyseliny. Další část proteinů je koagulována kyselinou mléčnou (produkovanou bakteriemi mléčného kvašení). Trávicí enzymy je mohou takto rychleji štěpit díky zvětšenému povrchu proteinů (GRIEGER, HOLEC, 1990).

V kysaných mléčných výrobcích je činností mikroflóry zvýšen obsah některých volných aminokyselin (tryptofan, metionin, lysin) (CUPÁKOVÁ et al., 2002).

Enzymovou hydrolyzou kaseinu vznikají fosforylované peptidy, ty vytvářejí v zakysaném mléce rozpustné komplexy s vápníkem a významně zvyšují jeho biologickou dostupnost (LUKÁŠOVÁ, SMRČKOVÁ, 2003).

Ze zakysaného mléka byly také izolovány hydrolyzáty kaseinu, které působí jako ACE-inhibitory (angiotensin-converting-enzyme inhibitor) s významným antihypertenzním účinkem a mohou se uplatnit i jako růstové faktory bifidobakterií (STEER et al., 2000).

Bioaktivní peptidy jsou peptidy obsažené ve funkčních potravinách, které kromě jejich výživové hodnoty mají také pozitivní fyziologický účinek v těle (VERMEIRSEN et al., 2004). Bioaktivní peptidy mohou být skryté ve struktuře bílkovin a k jejich uvolnění a aktivaci je nutná proteolýza (MINERVINY et al., 2003). Některé bioaktivní peptidy slouží jako přenašeče vápníku a jiných minerálů a tím zajišťují jejich rychlejší dostupnost (SILVA, MALCATA, 2005).

Průmyslově využívané kmeny bakterií mléčného kysání vytvářejí pomocí přirozené proteolýzy během fermentace bioaktivní peptidy. Využití mléčných bílkovin (především kaseinu) bakteriemi mléčného kvašení obvykle začíná štěpením. Počátek štěpení je uskutečňován pomocí extracelulárních proteináz na peptidy, které se následně štěpí na aminokyseliny pomocí intracelulárních peptidáz (CHRISTENSEN, 1999).

Při mléčném kvašení vzniká velké množství antimikrobiálních bioaktivních peptidů. Je zde možnost, že by se tyto antimikrobiální peptidy mohly užívat

v budoucnu při léčbě bakteriálních infekcí místo použití antibiotik. Tuto možnost nabízí též fágy a bakteriociny mléčných bakterií (JOEGER, 2003).

2.3 Fermentované mléčné výrobky

Podle Vyhlášky Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb. je jako fermentovaný mléčný výrobek označován výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi za použití mikroorganismů tepelně neošetřený po kysacím procesu. Vyhláška též specifikuje použité mikroorganismy a stanovuje pro jednotlivé skupiny kysaných mléčných výrobků množství bakterií použité mikrobiální kultury (tabulka č. 2).

Mezi potraviny obsahující probiotické bakterie patří zelenina konzervována mléčným kysáním – v našich podmínkách velmi známé kysané zelí a kvašené okurky, nikoliv zelenina pasterovaná v kyselém prostředí. Méně známé, ale velmi perspektivní by mohly být kysané houby, protože kromě probiotických bakterií jsou zásobárnou specifické vlákniny, která je také nutná pro správnou funkci střev. Mezi další potraviny s probiotiky můžeme řadit fermentované masné výrobky např.: poličan, herkules, křemešník, čabajské a uherské klobásy. Nejvíce zastoupenými potravinami s obsahem probiotik jsou však kysané mléčné výrobky, kam patří např.: jogurty, jogurtová mléka, acidofilní mléka, kefíry, kefirová mléka, kysané mléko nebo smetanový zákys, kysaná nebo zakysaná smetana a kysané podmáslí (KOVÁŘÍKOVÁ, ERBAN, 2007).

V ČR je používání probiotik vymezeno Vyhláškou Ministerstva zdravotnictví č. 352/2009 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin.

Tabulka č. 2) Druhy živých mikroorganismů v kysaných mléčných výrobcích (Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb. Sb.).

Druh výrobku	Použité mikroorganismy	Mléčná mikroflóra výrobku v 1 g
Acidofilní mléko	<i>Lactobacillus acidophilus</i> a další mezofilní, příp. termofilní kultury bakterií mléčného kvašení	10^6 <i>Lactobacillus acidophilus</i>
Jogurty *)	protosymbiotická směs <i>Streptococcus salivarius ssp. thermophilus</i> a <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	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 zkvašující laktózu <i>Kluyveromyces marxianus</i> i nezkvašujících laktózu <i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces exiguus</i> a dále <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> a <i>Aerobacter</i> , rostoucí ve vzájemném společenství	bakterie mléčného kvašení 10^6 a kvasinky 10^4
Kefírové mléko	zákys skládající se z kvasinkových kultur rodu <i>Kluyveromyces</i> , <i>Torulopsis</i> nebo <i>Candida valida</i> a mezofilních a termofilních kultur bakterií mléčného kvašení v symbióze	bakterie mléčného kvašení 10^6 a kvasinky 10^2
Kysaný mléčný výrobek s bifidokulturou	<i>Bifidobacterium ssp.</i> v kombinaci s mezofilními a termofilními bakteriemi mléčného kvašení	10^6 bifidobakterie

*) U jogurtových výrobků mohou být kromě základní jogurtové kultury přidávány kmeny produkující kyselinu mléčnou a pomáhající dotvářet specifickou chuťovou nebo texturovou charakteristiku výrobku. Musí však být zachován optimální poměr obou základních kmenů jogurtové kultury (Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb.).

2.4 Jogurt

Jogurt patří mezi nejrozšířenější a nejoblíbenější kysané mléčné výrobky. Výroba jogurtu byla známa již 5000 let před naším letopočtem v zemích středního Východu. Prvotní záměr výroby spočíval ve snadnějším uchování mléka v horkém podnebí a zároveň i pro jeho lahodnou chuť (VALENTOVÁ, 2001).

Jogurty patří mezi kysané mléčné výrobky s termofilními bakteriemi. Jak je uvedeno v tabulce č. 2, jogurtová kultura obsahuje bakterie *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Jogurt je vyvážená a zdraví prospěšná potravina, která má relativně nízkou energetickou hodnotu, ale je bohatým zdrojem plnohodnotných bílkovin, vápníku, fosforu a různých vitamínů skupiny B (ŠTAFEN, 2011). Definice jogurtu byla stanovena dle FAO/WHO následně: „Jogurt je sražený mléčný produkt získaný mléčným kysáním pomocí bakterií *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Mikroorganismy ve finálním výrobku musí být životaschopné a v hojném množství“ (HORIUCHI et al., 2009).

Oba mikroorganismy jogurtové kultury mají symbiotický vztah a spolu se vyznačují rychlou tvorbou kyseliny mléčné, při optimální teplotě 40 – 43 °C koagulují kasein za 2 – 3 hodiny. Koagulace začíná při hodnotě pH 5,3 a ukončená je při 4,5. Druhou významnou vlastností jogurtového zákysu je tvorba aromatické látky acetaldehydu v množství 20 – 30 mg/l (GÖRNER, VALÍK, 2004).

2.4.1 Výroba jogurtu

Mléko určené pro výrobu kysaných mléčných výrobků musí svými vlastnostmi a složením tvořit vhodné podmínky pro rozvoj přidaných čistých mlékařských kultur. Mléko nesmí obsahovat žádné inhibiční látky, musí být získáváno hygienickým způsobem od zdravých a dobře krmených dojnic a musí mít normální složení a vlastnosti. Na výrobu kysaných mléčných výrobků se používá mléko o různé tučnosti, popřípadě i obnovené sušené mléko. Pro vlastní výrobu se mléko standardizuje na obsah tuku a sušiny (ŠUSTOVÁ, LUŽOVÁ, 2008). Pro vylepšení konzistence se zvyšuje obsah sušiny zahuštěním nebo přidávkem sušeného odstředěného mléka (asi 15 %). Homogenizací se stává produkt chuťově plnější a viskóznější. Mléko na výrobu jogurtů se při pasteraci zahřívá na vysoké teploty, aby syrovátkové bílkoviny denaturovaly a navázaly se na kaseinové micely.

Bílkoviny takto silněji vážou vodu, dochází k odbourání cysteinu a sacharidů (DRDÁK et al., 1996).

Po ochlazení mléka na teplotu fermentace (kolem 30 až 40 °C) se do mléka přidávají mlékařské kultury (ŠUSTOVÁ, LUŽOVÁ, 2008). Mléka určená na výrobu jogurtu se obvykle očkují 1 - 2 % aktivní kultury (JAY et al., 2005). *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* a *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* se obvykle přidávají do jogurtové směsi v poměru 1:1. Kultury mohou být připravovány odděleně z čistých kmenů nebo se mohou lyofilizované přidávat přímo do směsi (MARTH, STEELE, 2001).

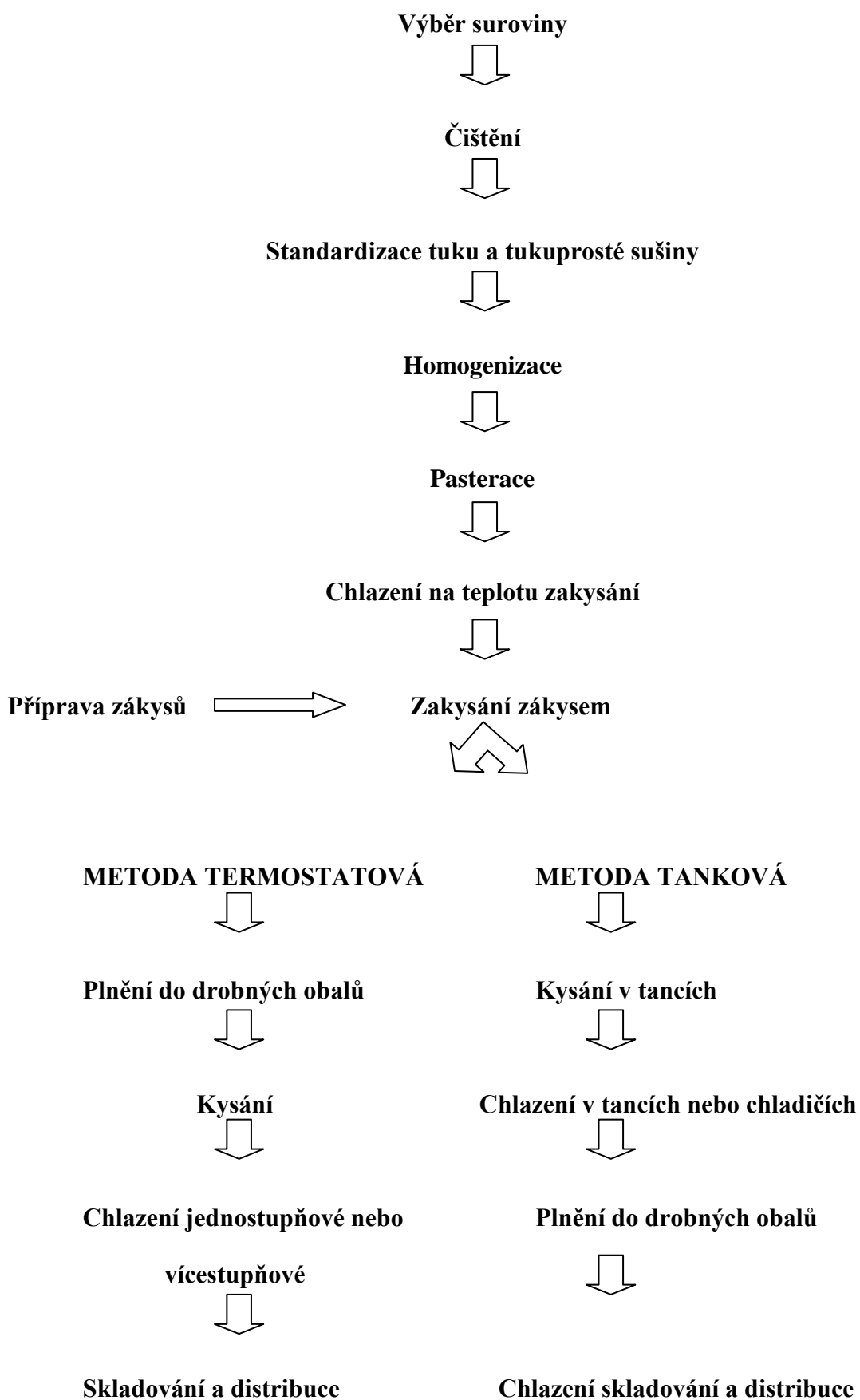
Při fermentaci standardizované, homogenizované a vysokopasterované směsi pro výrobu jogurtů je důležité udržet správný poměr laktobacilů a streptokoků a vytvořit podmínky pro vznik požadovaného množství metabolitů (kyselina mléčná 0,85 – 1,20 %, acetaldehyd 10 – 15 mg/kg, biacetyl 1 – 2 mg/kg). Poměr obou druhů je nejvíce ovlivněn dobou kultivace, teplotou inkubace a objemem inokula. Zvýšení inokula, doby i teploty kultivace se posouvá poměr bakterií ve prospěch laktobacilů, což se projeví vyšší kyselostí a vyšším podílem fyziologicky méně výhodného D(-) izomeru kyseliny mléčné. V současné době se fermentace obvykle vede tak, aby výrobek obsahoval v převaze streptokoky, byl méně kyselý a obsahoval vyšší podíl L(+) izomeru kyseliny mléčné. Sensorické hodnocení jogurtové kultury se provádí po jejím vychlazení na 10 °C. Dobrá kultura vykazuje hustou konzistenci, povrch je suchý, bez syrovátky. Film neulpívá na stěně, ale rozděluje se v praménky. Chuť je čistě kyselá, specificky jogurtová (KADLEC et al., 2009).

V ČR se využívají dva typy fermentace jogurtů. Prvním typem je fermentace ve spotřebitelských obalech tedy tzv. **klasická termostatová metoda**, obvykle se uskutečňuje po dobu 3 – 4 hodin při teplotě 42 – 45 °C, s inokulem 1 – 2 % (obj.). Spotřebitelské balení je naplněno jogurtovou směsí ještě před fermentací. Minimální titrační kyselost se po 4 hodinách kultivace při 42 °C pohybuje v rozmezí 40 až 50 SH (2,5 mmol H⁺/l) a aktivní kyselost v rozmezí 4,0 až 4,5. Při výrobě se ovšem fermentace ukončuje dříve při vyšším pH (např. 4,7 – 5,0), protože vychlazení v obalu je relativně pomalé a fermentace částečně probíhá i během chlazení (KADLEC et al., 2009). Jogurt se sušinou 21% má mít po ukončení fermentace 60 – 65 SH a v době expedice ne víc jak 75 SH. Při tomto způsobu výroby má jogurt bílou barvu, hladký povrch a jemnou konzistenci. Chuť a vůně je čistá, výrazně

aromatická, jogurtová, správně kyselá. Při nedostatečném vychlazení po ukončení fermentace může docházet k dalšímu prokysávání, a tím ke vzniku kovové příchuti (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Druhým typem fermentace je **fermentace tanková**. Tento typ jogurtu se vyrábí fermentací jogurtové směsi v tanku, která je až po fermentaci a promíchání balena do spotřebních obalů (HORIUCHI et al., 2009). Fermentace může probíhat i po dobu až 16 – 18 hod., při teplotě 30 °C, s inokulem 0,05 – 0,10 % (obj.). Obvyklé jsou i postupy za podmínek ležících mezi klasickou termostátovou a tankovou fermentací (např. s dobou 7 – 8 hodin, při teplotě 30 – 36 °C). Při dlouhodobé kultivaci při nižší teplotě méně rostou laktobacily, což má za následek nižší kyselost a méně typickou jogurtovou chuť a vůni. Chlazení u tankové metody probíhá obvykle dvojstupňově: (1. stupeň kontinuálně na teplotu 20 °C, 2. stupeň po plnění v obalu na teplotu 4 – 8 °C), protože během chlazení se částečně obnoví struktura koagulátu a zvýší viskozita výrobku. Je možné i jednostupňové chlazení, které ovšem vede k méně viskózní konzistenci. Na konci fermentace má mít jogurt kyselost 70 – 75 SH (ŠUSTOVÁ, LUŽOVÁ, 2008).

SCHÉMA VÝROBY JOGURTU (ZADRAŽIL, 2002)



Při výrobě jogurtů, kde se požaduje trvanlivost po výrobě, po dobu přepravy a uchování v potravinářských prodejnách 15 – 30 dní, nesmí jejich teplota překročit 8 °C. Snahou závodu je, aby teplota produktu nepřekročila 6 °C. Při manipulaci s mléčnou směsí po předepsané pasteraci se ve fermentačních tancích pracuje zásadně se vzduchem pročištěným mikrobiologickými filtry (GÖRNER, VALÍK, 2004).

2.4.2 Rozdělení jogurtů

Jogurtové výrobky se mohou dělit na přírodní jogurty a ochucené, které obsahují navíc další různé složky, např. ovoce, cereálie, aromata, barviva a přísady zlepšující konzistenci (HRABĚ et al., 2006).

Podle obsahu tuku lze dělit jogurty na smetanové (obsahují více než 10 % tuku), bílé (více než 3 %), jogurty se sníženým obsahem tuku (0,5 – 3 %) a nízkotučné (0 – 0,5 % tuku) (Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb. Sb.).

Dále se jogurty rozdělují podle použitého způsobu fermentace a zpracování koagulátu na jogurty s nerozmíchaným koagulátem (fermentace probíhá přímo ve spotřebitelském obalu), jogurty s rozmíchaným koagulátem (fermentace probíhá v tanku, po promíchání a vychlazení se plní do obalů), jogurty pitné (fermentace probíhá v tanku, následuje ochlazení na 18 – 20 °C, přidají se přísady a probíhá ošetření pro prodloužení doby použitelnosti) (KADLEC, 2008).

2.4.3 Jogurty s obsahem probiotických mikroorganismů

V posledních letech byla snaha o zlepšování životaschopnosti probiotik ve fermentovaných mléčných výrobcích, neboť jejich zastoupení v potravinách hraje pro spotřebitele důležitou roli. Laktobacily a bifidobakterie jsou přidávány do směsných kultur pro vytvoření funkčních potravin (SALAZAR et al., 2009).

Především jsou preferovány bifidobakterie lidského původu: *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. infantis* a *B. bifidum*. Musí být použito o 10 % více inokula, protože bifidobakterie produkují kyselinu mléčnou pomalu. Inkubace probíhá při teplotě 42 °C 6 – 8 hodin, vytvoří se sraženina a počet živých mikroorganismů ve finálním výrobku musí být podle Vyhlášky Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb. Sb. 10^6 KTJ/g (kolonii tvořící jednotky). Výhodou při používání

bifidobakterií je, že nedochází k vysokému okyselení během výroby a skladování a výsledný jogurt má tedy jemnější chuť. K zajištění životaschopnosti kultury během skladování výsledného jogurtu musí být vybrány vhodné kmeny bifidobakterií (MARTH, STEELE, 2001).

2.4.4 Životaschopnost probiotických mikroorganismů v jogurtech

Životaschopnost probiotických bakterií v jogurtu závisí na použité kultuře, interakcích mezi přítomnými druhy, produkci peroxidu vodíku během bakteriálního metabolismu a také na aciditě výrobku. Dále je životaschopnost závislá na přístupnosti živin, přítomnosti růstových promotorů a inhibitorů, koncentraci sacharidů, množství rozpuštěného kyslíku a jeho průchodnosti přes obal (zvláště platí pro *Bifidobacterium sp.*), velikosti inokula a době fermentace. Bifidobakterie jsou přirozeně anaerobní a proto jejich růst a přežívání negativně ovlivňuje vysoký obsah kyslíku. *Lactobacillus acidophilus* má vysokou pufrační kapacitu cytoplazmy (pH 3,72 – 7,74), což mu umožňuje přežít změny cytoplazmatického pH a udržet si stabilitu i v kyselých podmínkách. V porovnání s bifidobakteriemi je *Lactobacillus acidophilus* také mnohem tolerantnější ke kyselým podmínkám a roste i při nižším pH než 5 (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Tolerance mikroorganismů rodu *Bifidobacterium ssp.* ke kyselým podmínkám je druhově specifická. *B. longum* snáší kyselé prostředí lépe než *B. infantis*, *B. adolescentis* a *B. bifidum*. *B. longum* také lépe roste v čerstvém mléce, zatímco *B. animalis ssp. animalis* potřebuje ke svému růstu mléko fermentované. I když studie prokázaly, že tolerance *Bifidobacterium ssp.* ke kyselým podmínkám a žlučovým kyselinám je druhově specifická, DAVE, SHAH(1997^A) prokázali, že *B. animalis ssp. animalis* přežívá lépe než ostatní druhy.

Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus ovlivňuje růst *Lactobacillus acidophilus* a bifidobakterií díky tomu, že produkuje během fermentace kyseliny a peroxid vodíku. Díky proteolytické schopnosti roste *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* rychleji a produkuje více kyselin. Kromě toho se také uvolňují esenciální aminokyseliny valin, glycin a histidin, které růst bifidobakterií podporují. *Streptococcus thermophilus* růst probiotických organismů neinhibuje a pravděpodobně ho stimuluje díky jeho spotřebě kyslíku (DAVE, SHAH, 1997^A).

Fermentační média

Použití probiotických mikroorganismů k fermentaci mléka je značně omezeno jejich pomalým růstem v mléce. I přestože *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium ssp.* vykazují galaktosidázovou aktivitu, je důvodem jejich pomalého růstu nízká koncentrace volných aminokyselin a peptidů v mléce, které tyto mikroorganismy potřebují ke svému růstu. Růst *L. acidophilus* a *Bifidobacterium ssp.* v mléce lze zvýšit přidáním kaseinového nebo proteinového hydrolyzátu, extraktu z kvasinek, glukózy a vitamínů. Přídavek mléčného proteinu zvyšuje pufrční kapacitu fermentovaného mléka a zvyšuje životaschopnost probiotických mikroorganismů (LEDVINA et al., 2004).

Na syntetických médiích rostou probiotické organismy obvykle lépe než v mléce. Tato média jsou však pro rozsáhlejší kultivace probiotických bakterií nákladná a drahá a také mohou způsobovat nepříjemnou pachů. K výrobě kvalitního produktu je tedy nutné použít jako médium mléko kvůli přítomnosti kaseinu. Pomalý růst probiotických mikroorganismů v mléce může způsobit přerůstání nežádoucími mikroorganismy, které následně mohou zapříčinit nepříjemnou chuť výrobku. Fermentační proces s *Lactobacillus delbrueckii* a *Streptococcus thermophilus* trvá 4 hodiny, pokud je však přítomna pouze probiotická kultura, trvá fermentace 20 – 24 hodin. Z tohoto důvodu jsou obě kultury přidávány buď společně, nebo je fermentace rozdělena, kdy probiotika rostou v jedné části mléka (aby se docílilo vysokého počtu jejich buněk) a mikroorganismy startovací kultury rostou v jiné části mléka. Po ukončení tohoto způsobu fermentace se obě části smíchají dohromady (LEDVINA et al., 2004, DRAKARLARAKOU et al., 2003).

Vliv kyslíku na životaschopnost

Pro zajištění probiotických vlastností výrobku je důležité, aby bakterie přežily i v trvanlivých výrobcích. Bifidobakterie jsou anaerobní a přítomnost kyslíku je kritickým problémem. Kyslík může snadno pronikat do mléka během výroby jogurtu. Odstranění kyslíku během výroby probiotických mléčných produktů vyžaduje speciální vybavení, které zajistí anaerobní podmínky (DAVE, SHAH, 1997^B).

Kyslík ničí probiotické kultury dvěma způsoby. První je přímá toxicita, kdy určité probiotické kultury jsou na kyslík citlivé a zabijí je již jeho samotná

přítomnost. Druhým způsobem je vznik metabolického peroxidu vodíku u některých kultur. Například u *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, byla zaznamenána i synergistická inhibice probiotických kultur v důsledku tvorby kyselin a peroxidu vodíku (TALWALKAR, KAILASAPATHY, 2004).

KAILASAPATHY et al. (2008) zjistili, že přídavek ovocné složky (mango, rybíz, jahoda, malina, borůvka a mučenka) neměl významný vliv na životaschopnost probiotických bakterií *L. acidophilus* a *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* v jogurtech s rozmíchaným koagulátem. Nepatrný vliv mělo na přežití probiotických bakterií pH, nicméně množství probiotik po 35 – dnech splňovalo požadovanou úroveň $10^6 - 10^7$ KTJ/g.

Následující pasáž „ MATERIÁL A METODIKA“ o rozsahu 9 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „ VÝSLEDKY A DISKUSE“ o rozsahu 27 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „ZÁVĚR“ o rozsahu 2 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „SUMMARY“ o rozsahu 2 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

3. SEZNAM LITERATURY

1. CONTOR, L. Nutr. Metab. Cardiovasc. *Functional food science in Europe*. 2001, č. 11, s. 20 – 23.
2. CUPÁKOVÁ, Š., JANŠTOVÁ, B., NAVRÁTILOVA, P., NECIDOVA, L. Úloha probiotik v kysaných mléčných výrobcích. *Veterinářství*, 2002, 52, s. 66-68.
3. ČERNÁ, E., MERGL, M. *Laboratorní kontrolní metody v mlékařství*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1971, s. 264.
4. ^ADAVE, R. I., SHAH N. P. Viability of Yoghurt and Probiotic Bacteria in Yoghurts Made from Commercial Starter Cultures. *Elsevier Science Limited*. Great Britain, 1997, č. 7, 31 – 41 s.
5. ^BDAVE, R. I., SHAH, N. P. Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International dairy journal*. AUG-SEP, 1997, č. 7, 537-545 s.
6. DRAKOULARAKOU A. P., KEHAGIAS C., KARAKANAS P. N., KOULOURIS S., TIMBIS D. A study of the growth of *Lactobacillus acidophilus* in bovine, ovine and caprine milk. *Int. J. Dairy Technol.* 56: s. 59-61
7. DRDÁK, M., et al. *Základy potravinářských technologií: Spracovanie rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie, uchovanie, hygiena a ekológia potravín*. 1. vyd. Brno: Malé Centrum, 1996. 511 s. ISBN 80-967064-1-1.
8. DVOŘÁK, V. *Analytická chemie I*. 1.vyd. Kroměříž: VOŠP, 2003.
9. GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2000. ISBN 80-7157-342-6.
10. GÖRNER, F., L. VALÍK. *Aplikovaná mikrobiologie poživatin*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
11. GRIEGER, C., HOLEC, J., a kol.: *Hygiena mléka a mléčných výrobků*. Bratislava: Příroda, 1990. 520 s. ISBN 80-07-00253-7
12. HEUBNER, J., WEHLIG R. L., HUTKINS R. V. Functional activity of commercial prebiotics. *Int. Dairy J.* 2007, č. 17, 770 – 775.
13. HORÁČKOVÁ, Š. a E. ŠVIRÁKOVÁ. Probiotické mikroorganismy v mlékárenském průmyslu. *Mlékařské listy*. 2009, 113/114, s. 13.

14. HORÁČKOVÁ, Š. Nové trendy v probiotikách. *Mlékařské listy*. 2010, č. 120, s. 19.
15. HORIUCHI, H., et al. A method for manufacturing superior set yogurt under reduced oxygen conditions. *Journal of Dairy Science: Official Publication of the American Dairy Science Association*. 2009, vol. 92, no. 9, 4112 – 4121 s.
16. HRABĚ, J., BŘEZINA, P., VALÁŠEK, P. *Technologie výroby potravin živočišného původu*. 1. vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2006. 180 s. ISBN 80-7318 405-2.
17. HUGENHOLTZ, J., SYBESMA, W., GROOT, M. N., WISSELINK, W., LADERO, V., BURGESS, K., SINDEREN, D., PIARD, J.-Ch., EGGINK, G., SMID, E.J., SAVOY, G., SESMA, F., JANSEN, T., HOLS, P., KLEEREBEZEM, M. Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals. *Anton. Leeuw.*, 2002, 82(1-4):217-35.
18. CHRISTENSEN, J. E., DUDLEY, E. G., PEDERSON, J. A., STEELE, J. L. Peptidases and aminoacid catabolism in lactic acid bacteria. *A. Van. Leeuw.*, 1999, 76(1-4):217-246.
19. JAY, J. M., LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. A. *Modern Food Microbiology*. 7th edition. New York: Springer, 2005, 790s. ISBN 0-38723180-3.
20. JOERGER, R. D. Antimicrobial peptides and bacteriophages. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003, 77(2):326-330.
21. KADLEC, P. *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. Technologie mléka a mlékárenských výrobků, 236 s. ISBN 978-80-7080-510-7.
22. KADLEC, P., a kol. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key publishing, 2009. 536 s. Monografie. ISBN 978-80-7418-060-6.
23. KAILASAPATHY, K., I. HARMSTORF a M. PHILLIPS. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. *Science Direct*. 2008, č. 4, 1317 – 1322 s.
24. KNĚZ, V., et al. *Čisté mlékařské kultury a jejich použití v mlékárenském průmyslu*. 2. přeprac. vyd. Praha: SNTL/Slovenské vydavatelstvo technickej literatury, 1960. 300s.

25. KOVAŘÍKOVÁ, E., ERBAN, V. Výživa a potraviny. *Probiotika-přátelé nejbližší*, 2007, roč.62, č. 6, s. 153-155.
26. KRAHULCOVÁ, A. *Vývoj probiotického doplňku stravy*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2011. 114 s. Diplomová práce. Vedoucí práce Dana Vránová.
27. LeBLANC J.G., de GIORI G.S., SMID E.J., HUGENHOLTZ J., SESMA F. (2007) *Folate production by lactic acid bacteria and other food-grade microorganisms*. In: Mendez-Vilas A. (eds.) *Communicating Current research and Educationaũ Topics and Trends in Applied Microbiology*. 329-339, Formatex.
28. LEDVINA, M., STOKLASOVÁ, A., CERMAN, J. *Biochemie pro studující medicíny*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2004. 2 sv. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0851-0.
29. LEHEROVÁ, H. *Sledování růstu kulturní mikroflóry v jogurtu v průběhu minimální doby trvanlivosti*. České Budějovice, 2013. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce Eva Samková.
30. LUKÁŠOVÁ, J., SMRČKOVÁ, A. Obsah vápníku v mléce a jeho význam. *Veterinářství*, 2003, 53, s. 192-193 .
31. MARTH, E. T., J. L. STEELE. *Applied Dairy Microbiology*. 2nd editin. New York: Marcel Dekker, 2001. 13 s. ISBN 0-8247-0536-X.
32. MAXA, V., RADA, V. Význam bifidobakterií a bakterií mléčného kvašení pro výživu a zdraví. 2. vydání. Praha: ÚZPI 2002. 40 s. ISBN 80-85120-57-7.
33. McSWEENEY, P. L. H., FOX, P. F. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 3 – Lactose, Water, Salt and Minor Constituents*. 3rd Edition, Springer-Verlag. s. 825.
34. MINERVINY, F., ALGARON, F., FOX, P. F., MONNET, V., GOBETTI, M., RIZZELO, C. G. Angiotensin I converting enzyme inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *Int. J. Dairy Technol.*, 2003,69(9):5297-5305.
35. NĚMEČKOVÁ, I., MARTÍNKOVÁ S., ROUBAL P. Vliv pH a teploty skladování na mikrobiologickou kvalitu acidofilních mlék. *Mlékařské listy*. 2011, č. 128, s. 15-18.

36. ONGOL, M. P., SAWATARI, Y., EBINA, Y., SONE, T., TANAKA, M., TOMITA, F., YOKOTA, A., ASANO, K. *Yoghurt fermented by Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus H⁺ - ATPase-defective mutants exhibits enhanced viability of Bifidobacterium breve during storage.* International Journal and Food Microbiology. 2007, 116, 358-366 s.
37. PETŘÍKOVÁ, A. *Mikrobiální společenstva mléka.* Brno, 2012. Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Ústav experimentální biologie. Vedoucí práce Kateřina Kšicová.
38. RUDOLFOVÁ, J., ČURDA L. Prebiotický účinek galaktooligosacharidů a využití laktosy pro jejich produkci. *Chemické listy*, 2005, 99, s. 168-174.
39. SAKO, T., MATSUMOTO, K., TANAKA, R. Recent progress on research and applications nondigestible galactooligosaccharides. *International Dairy Journal*, 1999, 9, s. 69–80.
40. SALAZAR, N., et al. Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains of human origin, and metabolit activity of the producing bacteria in milk. *Journal of Dairy Science: Official Publication of the American Dairy Science Association*. 2009, vol. 92, no. 9, 4158 – 4168 s.
41. SILVA, V. S., MALCATA, F. X.: Casein as source of bioactive peptides. *Int. Dairy. J.*, 2005, 15(1):1-5.
42. SHAH, N. P. Probiotic bakterie: Selective enumeration and survival in dairy foods. *J. Dairy Sci.*, 2000, 83: 894-907.
43. STEER, T., CARPENTER, H., TUOHY, K., GIBSON, R. Perspectives on the role of the human gut microbiota and its modulation by pro and prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 2000, 13, s. 229-254.
44. SUCHÁNEK, P. Probiotika - další nové poznatky. *Moje zdraví*. 2006, roč. 4, č. 2, 50 – 52 s.
45. ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology.* Praha: Akademia. 2002. 363 s. ISBN 8-85605-71-6
46. ŠTAFEN, M. *Potravinářská revue. Zakysané mléčné výrobky a jogurt - nezpochybnitelná součást zdravé výživy.* 2011, 12 - 13.
47. ŠUSTOVÁ, K., LUŽOVÁ T. *Výroba jogurtů. Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků. V. Sborník referátů ze semináře s mezinárodní účastí.* Brno, 2008. ISBN 978-80-7375-178-4.

48. TALWALKAR, A., KAILASAPATHY, K. A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: Influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2004, č. 3, 117-124 s.
49. TAMINE A. Y. *Probiotic Dairy Products*. Oxford: Blackwell Publishing, 2005, 215 s.
50. TARANTO, M.P., VERA, J.L., HUGENHOLTZ, J., DE VALDEZ, G.F., SESMA, F. Lactobacillus reuteri CRL1098 Produces Cobalamin. *J. Bacteriol.*, 2003, 185(18):5643-5647.
51. TEPLÝ, M., et al. *Kefír, jogurt, acidofilní a jiné kyselky*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1968. 185 s.
52. TYKVARTOVÁ, D., J. HRABĚ, D. HORNÍČKOVÁ, J. ŠVARC, J. MRÁZEK, M. POSPÍŠIL a J. PATROVSKÝ. Výběr vhodných hydrokoloidů pro stabilizaci jakosti termizovaných jogurtových nápojů. *Mlékařské listy*. 2009, č. 118, s. 8-12.
53. VERMEIRSEN, V., VAN CAMP, J., VERSTRAETE, W. Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Br. J. Nutr.*, 2004, 92(3):357-366.
54. Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.
55. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 352/2009 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin
56. ZADRAŽIL, K. *Mlékařství (přednášky)*. 1. vyd. Praha: Česká zemědělská Univerzita a ISV, 2002, s. 127.

Elektronické zdroje

1. KOHOUT, P. Probiotika, historie a současnost. *Medicína po promoci*. 2010, č. 2. Dostupné z: www.tribune.cz
2. KOKEŠOVÁ, A. Imunomodulační účinky probiotik v klinické praxi. *Pediatric pro praxi*. 2009, č. 10, s. 170. Dostupné z: www.pediatricpropraxi.cz
3. NEVORAL, J. Prebiotika, probiotika a synbiotika. *Pediatric pro praxi*. 2005, č. 2, s. 60. Dostupné z: www.pediatricpropraxi.cz

4. ŠPELINA, V., WINKLEROVÁ D. Principy hodnocení účinnosti a bezpečnosti probiotik a charakteristika registrovaných doplňků stravy s obsahem probiotik a prebiotik. *Pediatric pro praxi*. 2009, č. 10, 247 - 250. Dostupné z: www.pediatricpropraxi.cz
5. VALENTOVÁ, H. Obliba jogurtů a prevence chutí u dětí a mládeže. In: [online]. [cit. 2013-08-01]. Dostupné z: <http://institut-danone.cz/data/studie/pridelene-granty/2001-04pdf>.