

STANOVENÍ INULINU A FRUKTOOLIGOSACHARIDŮ V MLÉKÁRENSKÝCH VÝROBCÍCH S POUŽITÍM KITŮ MEGAZYME K-FRUC A HK-FRUC

Bohačenko, I.¹, Komárková, J.¹, Kopicová, Z.¹, Roubal, P.²

¹ Výzkumný ústav potravinářský v.v.i., Praha

² Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

Determination of Inulin and Fructooligosaccharides in Dairy Products using the Kits Megazyme K-FRUC and HK-FRUC

Abstrakt

Byla provedena implementace a interní validace analytických metod na stanovení inulinu a fruktooligosacharidů v mlékárenských výrobcích, využívajících kity Megazyme K-FRUC a Megazyme HK-FRUC. K experimentům byly použity preparáty Orafit GR (inulin) a Orafit P95 (oligofruktosa). Při interní validaci byla hodnocena správnost metod porovnáním s referenčním materiálem a dále stanovena rozšířená nejistota stanovení U, vyjádřená jako dvojnásobek směrodatné odchylky, vypočtené z nejméně 7 stanovení. Na základě uspokojivých výsledků interní validace lze obě metody doporučit pro stanovení inulinu nebo fruktooligosacharidů v mlékárenských výrobcích.

Klíčová slova: mlékárenské výrobky, analytické metody, inulin, fruktooligosacharidy, kit Megazyme K-FRUC, kit Megazyme HK-FRUC

Abstract

Analytical methods with kits Megazyme K-FRUC and Megazyme HK-FRUC for inulin and fructooligosaccharides determinations in dairy products were introduced and internal validated. The commercial samples Orafit GR (inulin) and Orafit P95 (oligofruktosa) were used in experiments. Accuracy of methods (by comparison with reference standard) and expanded uncertainty of the measurement (calculated as the double of standard deviation from 7 parallel measurements) were determined for internal validation. On the basis of satisfactory results of internal validation, both methods can be recommended for the inulin or fructooligosaccharides determination in dairy products.

Keywords: dairy products, analytical methods, inulin, fructooligosaccharides, kit Megazyme K-FRUC, kit Megazyme HK-FRUC

Úvod

Přírodní fruktany (správněji glukofruktany) jsou polysacharidy složené z řetězců D-fruktosy, zakončené jednot-

kou D-glukosy. Dělí se na inuliny, vázané glykosidovou vazbou β - (1→2) a na levany s vazbou β - (2→6) (Velíšek 1999). Inuliny se přirozeně vyskytují v mnoha rostlinách a liší se, v závislosti na rostlinném druhu, svojí strukturou, především stupněm polymerace a molekulární hmotností (Vijn a Smeekens 1999). Nejvíce jsou obsaženy v kořenech čekanky (15-20 %) a hlízách topinamburů (16-20 %), které se též používají jako surovina při jejich výrobě. I zde se však mohou získané finální produkty lišit ve stupni polymerace (DP), a to v závislosti na podmínkách pěstování a technologii zpracování (Vijn a Smeekens 1999).

Zvláštní skupinou fruktanů jsou tzv. fruktooligosacharidy (dále jen FOS) s DP 2-10, které lze získat dvojím způsobem. V prvním případě (Crittenden a Playne 1996; Roberfroid a kol. 1996) jde o chemickou nebo kontrolovanou enzymovou hydrolyzu inulasou (β -1,2-fruktan fruktanhydrolasou), kdy získáme lineární polymery typu GF_n a F_n (G = glukosa, F = fruktosa, n = stupeň polymerace) s DP 3-9 (průměr DP 4,5). Na tomto principu je založena jejich produkce v Evropě (např. výrobky ORAFIT belgické firmy BENEOTM). Druhou možností je výroba FOS ze sacharosy transfruktosylační reakcí enzymem β -fruktosidasou, kdy vzniká směs polymerů typu GF_n s DP 1-5 a která je zavedena v Japonsku (Yun 1996).

Inulin a FOS splňují náročné podmínky na "prebiotika", tj. látky, které jsou resistantní ke gastrické aciditě a hydrolyze zaživacími enzymy. Zároveň jsou však fermentovatelné intestinální mikroflorou a selektivně stimulují růst a/nebo aktivitu vybraných bakterií tlustého střeva, což jest spojeno se zlepšením zdraví a "wellbeing" hostitele (Gibson a kol. 2004). Z tohoto důvodu jsou používány jako ingredience do funkčních potravin s prebiotickými nebo synbiotickými vlastnostmi. Využívány jsou též při výrobě nízkokalorických potravin, a to inulin jako náhrada tuků a FOS jako náhrada cukru.

Mimo mezilaboratorně validovanou AOAC Official Method 997.08, která je založena na systému HPAEC-PAD (high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection), jsou též pro stanovení fruktanů navrženy dvě analytické metody se spektrofotometrickou koncovkou, využívající kitů Megazyme K-FRUC a Megazyme HK-FRUC. Protože tyto dvě posledně jmenované metody nejsou u nás prakticky používány, byla hlavním cílem naší práce jejich implementace a interní validace s ohledem na aplikaci v mlékárenských výrobcích.

Materiál a metody

Analýzy byly prováděny pomocí kitů K-FRUC a HK-FRUC, výrobce Megazyme International Ireland Ltd, použity byly výrobky na bázi fruktanů od fy BENEOTM se základními charakteristikami deklarovanými výrobcem:

Orafit GR: Slabě nasládlý, hygroskopický, bílý prášek, obsahující převážně čekankový inulin s polymeračním stupněm 2 až 60 (průměrný DP > 10).

Chemické složení: inulin: ≥ 88 % /suš., volná glukosa + fruktosa: ≤ 4 % /suš., volná sacharosa: ≤ 8 % /suš., sušina: $97 \pm 1,5$ %

pH: 5,0-7,0 (pro roztok 10 ° Bx)

rozpuštnost ve vodě: 12 g /100 ml při 25 °C

Orafti P95: Slabě nasládlý, hygroskopický, bílý jemný prášek, obsahující převážně oligofruktosu (DP 2-8) jako produkt parciální enzymové hydrolyzy čekankového inulinu.

Chemické složení: oligofruktosa: \geq 93,2 % v suš., volná glukosa + fruktosa + sacharosa: \leq 6,8 % v suš., sušina: $97 \pm 1,5$ %

pH: 5,0-7,0 (pro roztoky 30-50 °Bx)

rozpuštnost ve vodě: 75 g /100 ml při 25 °C

Chemikálie: Součástí kitu Megazyme K-FRUC (100 stanovení) jsou:

lyofilisovaný směsný enzym (invertasa, β -amylasa, pululanasa a maltasa), lyofilisovaná fruktanasa (směs exo-inulasy a endo-inulasy), standardní materiál (obsah inulinu 28,8 %), standard sacharosy, standardní roztok fruktosy (1,5 mg/ ml).

Součástí kitu Megazyme HK-FRUC (50 stanovení) jsou :

lyofilisovaný směsný enzym (invertasa, β -amylasa, pululanasa a maltasa), lyofilisovaná fruktanasa (směs exo-inulasy a endo-inulasy), standardní materiál (obsah inulinu 28,8 %), standardní roztok fruktosy (1,5 mg/ ml), 2M imidazolový pufr (25 ml, pH 7,6), směs NADP+ (150 mg) a ATP (440 mg), směs hexokinasa (425 U/ml) glukosa-6-fosfo dehydrogenasa (212 U/ml) a PGI (840 U/ml).

Další chemikálie pro přípravu pufrů a činidel dle návodu výrobce kitů:

kyselina jablečná, hydrazid kyseliny p-hydroxibenzoové (PAHBAH), borhydrid sodný (vše Sigma-Aldrich), ledová kyselina octová, hydroxid sodný, kyselina chlorovodíková, trisodium citrate dihydrate, chlorid vápenatý, dihydrát (vše Lachner).

Přístroje: UV/Vis spektrofotometr HELIOS ALPHA (Thermo Scientific), pH metr inoLab (WTW), el.-mag. míchadlo se záhřevem NST digital Yellow Line, minishaker MS, třepací vodní lázeň (Memmert), ultratermostat.

Metody: Při implementaci metod s oběma kity Megazyme byl přesně dodržován podrobný postup předepsaný výrobcem, který je součástí kitů. Proto je zde uváděn pouze stručnou formou, v podstatě posloupností jednotlivých kroků v průběhu analýz.

Metoda s využitím kitu Megazyme K-FRUC

Fruktany jsou ze vzorku extrahovány horkou vodou. Při úvodní úpravě vzorku je přítomná sacharosa hydrolyzována na fruktosu a glukosu invertasou. Jsou-li přítomny ve vzorku škrob nebo maltodextriny, jsou hydrolyzovány na glukosu kombinovaným enzymem obsahujícím β -amylasu, pullulanasu a maltasu. Pro vzorky obsahující galaktosylsacharosové oligosacharidy (např. rafinosu) se doporučuje inkubace s α -galaktosidasou. Vzniklé redukující cukry jsou pak redukovány na cukerné alkoholy přidávkem alkalického borhydridu. Tento roztok je neutralisován a přebytek borhydridu odstraněn přidávkem zředěné kyseliny octové. Vlastní fruktan je hydrolyzován na fruktosu a glukosu fruktanasou (inulasou). Vzniklé redukující cukry jsou stanove-

ny spektrofotometricky při vlnové délce 410 nm po barevné reakci s hydrazidem kyseliny p-hydroxibenzoové (PAHBAH), přičemž barevná odpověď fruktosy a glukosy je stejná. Suma těchto sacharidů je pak základem pro výpočet obsahu fruktanů (podrobný vzorec je součástí kitu).

Upozornění: použití tohoto kitu vychází z AOAC Official Method 999.03, Measurement of Total Fructan in Foods, Enzymatic/Spectrophotometric Method a je doporučováno pouze pro stanovení inulinu, nikoli oligofruktosy!

Metoda s použitím kitu Megazyme HK-FRUC

Metoda využívá specifické vlastnosti enzymu hexokinasy, která katalyzuje reakci:



Fosforylována je D-glukosa, D-fruktosa a D-manosa, ostatní sacharidy L-arabinosa, D-xylosa, L-rhamnosa, D-galaktosa, sacharosa, laktosa, maltosa, trehalosa a rafinosu reakci neposkytují.

Fruktany jsou ze vzorku extrahovány horkou vodou. Jsou-li ve vzorku přítomny sacharosa a maltooligosacharidy, jsou při úvodní úpravě napřed hydrolyzovány na fruktosu a glukosu směsným enzymem obsahujícím invertasu a β -amylasu, pululanasu a maltasu. Po úpravě pH je stanoven obsah glukosy a fruktosy, a to buď přímo ve vzorku bez hydrolyzy fruktanů (vzorek A), nebo ve vzorku po hydrolyze fruktanů fruktanasou (vzorek B). Koncentrace sumy glukosy a fruktosy je měřena spektrofotometricky při vlnové délce 340 nm po reakci s hexokinásou. Obsah fruktanů je určen z rozdílů obsahů glukosy a fruktosy ve vzorcích B a A (podrobný vzorec výpočtu je součástí kitu).

Interní validace (Suchánek 1999): Správnost metod byla hodnocena porovnáním s referenčním materiálem (je součástí kitů). Dále byla stanovena rozšířená nejistota stanovení U, vyjádřená jako dvojnásobek směrodatné odchylky vypočtené z nejméně 7 stanovení.

Výsledky a diskuse

Jak bylo řečeno v úvodu, je v našem případě použití metod s kity Megazyme určeno především pro stanovení fruktanů v mlékárenských výrobcích. Protože jsou založeny na bilanci sacharidů, bylo tedy třeba nejprve ověřit, zda přítomnost laktosy a galaktosy, které jsou přítomny v mléce, nebude nepříznivě ovlivňovat tato stanovení. K tomuto účelu bylo oběma metodami provedeno 5 paralelních analýz směsných standardních roztoků, obsahujících 0,2 mg/ml laktosy a galaktosy. V obou případech byla zjištěna nulová absorbance proti slepému pokusu, což potvrdilo výchozí předpoklady, že

- v případě metody K-FRUC jsou laktosa i galaktosa redukovány borhydridem na laktitol, res. galaktitol, které barevnou reakci s hydrazidem kyseliny p-hydroxibenzoové (PAHBAH) neposkytují,
- v případě metody HK-FRUC laktosa a galaktosa s hexokinásou nereagují.

Tab. 1 Interní validace stanovení fruktanů metodou Megazyme K-FRUC

vzorek	průměr /%/	min. - max /%/	s _r	U /%/
referenční materiál obsah inulinu /%/	28,78	27,07 - 30,67	1,21	2,42
Orafti GR obsah inulinu /%/	84,5	82,03 - 87,54	1,55	3,1
5% Orafti GR v mléce obsah inulinu /%/	4,97	4,45 - 5,43	0,34	0,68

Pozn.: deklarovaný obsah inulinu v referenčním materiálu 28,8 %
 s_r ... směrodatná odchylka
 U ... rozšířená nejistota stanovení /%/

Všechny parametry, určované při interní validaci obou metod, jsou přehledně uvedeny v Tab. 1 (pro K-FRUC) a v Tab. 2 (pro HK-FRUC). Pro stanovení správnosti bylo provedeno 10 paralelních analýz 0,2 % vodného roztoku referenčního materiálu (obsah 28,8 % fruktanů), který byl zahříván 15 minut při 80 °C. Jak je patrné z výše uvedených tabulek, poskytovala metoda K-FRUC průměrný obsah inulinu 28,78 %, tj. prakticky stejný jako u referenčního materiálu, zatím co u metody HK-FRUC činil průměrný obsah inulinu 27,74 %, tj. byl nižší o cca 1,0 %. Naopak nejistota stanovení (U) byla u metody K-FRUC vyšší (2,42 %) a u metody HK-FRUC nižší, a to 0,9%.

Stejný trend byl zaznamenán u stanovení obsahu inulinu v Orafti GR. Provedeno bylo 10 paralelních analýz 0,1 % vodného roztoku Orafti GR (metodou K-FRUC), resp. 0,2 % roztoku (metodou HK-FRUC). Průměrný obsah inulinu stanovený metodou K-FRUC činil 84,50 % při nejistotě stanovení 3,1 % (viz Tab. 1), metodou HK-FRUC byl nalezen jeho průměrný obsah 83,54 % s nejistotou stanovení 2,56 % (viz Tab. 2). Pokud se týká stanovení obsahu oligofruktosy v Orafti P95, byl za stejných podmínek nalezen metodou HK-FRUC průměrný obsah 85,40 % při nejistotě stanovení 3,56 % (viz. Tab. 2). Zde dodáváme, že metoda K-FRUC nebyla v tomto případě aplikována, neboť není pro stanovení oligofruktosy doporučována (viz výše).

Obsah fruktanů deklarovaný výrobcem je u Orafti GR cca 88 %/suš. inulinu a cca 93 %/suš. oligofruktosy u Orafti P95, a to při sušině obou preparátů cca 97 % (viz. kap. Materiál a metody). Při porovnání našich průměrných výsledků obsahu inulinu přepočtených na tuto sušinu, které činí

Tab. 2 Interní validace stanovení fruktanů metodou Megazyme HK-FRUC

vzorek	průměr /%/	min. - max /%/	s _r	U /%/
referenční materiál obsah inulinu /%/	27,74	26,40 - 27,50	0,45	0,9
Orafti GR obsah inulinu /%/	83,54	82,20 - 86,10	1,28	2,56
Orafti P95 obsah oligofruktosy /%/	85,4	81,20 - 87,70	1,78	3,56
5% Orafti GR v mléce obsah inulinu /%/	4,19	4,00 - 4,30	0,13	0,26
5% Orafti P95 v mléce obsah oligofruktosy /%/	4,23	4,00 - 4,40	0,11	0,22

Pozn.: deklarovaný obsah inulinu v referenčním materiálu 28,8 %
 s_r ... směrodatná odchylka
 U ... rozšířená nejistota stanovení /%/

87,1 %/suš. (stanoveno metodou K-FRUC), resp. 86,2 %/suš. (metoda HK-FRUC), lze konstatovat, že zde bylo dosaženo dobré shody s deklarovanými hodnotami (rozdíl 1-2 %). U obdobného porovnání obsahu oligofruktosy v Orafti P95, které u našich výsledků činí 88 %/suš., byl oproti deklarované hodnotě zaznamenán obsah o 5 % nižší. Tento rozdíl by mohl být způsoben zvlhnutím vysoce hygroskopického preparátu Orafti P95 v průběhu experimentů.

Při simulaci stanovení fruktanů v mlékárenských výrobcích bylo provedeno 7 paralelních stanovení následujících vzorků:

- pro stanovení inulinu metodou K-FRUC byla připravena směs UHT odstředěného mléka (obsah tuku 0,5%) s Orafti GR ve hmotnostním poměru 94 : 6, která byla zahřívána 15 minut při 80 °C. Po přepočtu na obsah inulinu v Orafti GR (84,5 %), obsahuje směs 5,1 % inulinu.
- Pro stanovení inulinu a oligofruktosy metodou HK-FRUC byly připraveny směsi UHT mléka s Orafti GR, resp. Orafti P95 ve hmotnostním poměru 95 : 5, které byly zahřívány 15 minut při 80 °C. Po přepočtu na obsah inulinu v Orafti GR (84,5 %) a Orafti P95 (85,4 %), obsahovaly směsi 4,23 % inulinu, resp. 4,27 % oligofruktosy.

Z tabulek 1 a 2 vyplývá, že v těchto případech byl metodou K-FRUC nalezen obsah inulinu 4,97 % při nejistotě stanovení 0,68 % a metodou HK-FRUC obsah inulinu 4,19%, resp. oligofruktosy 4,23 %, při nejistotách stanovení 0,26 %, resp. 0,22 %. Tyto výsledky pak dokumentují vysokou shodu předpokládaných a skutečně nalezených hodnot při uspokojivé nejistotě stanovení, zvláště u metody HK-FRUC.

Základní parametry naší interní validace metody K-FRUC, tj. směrodatné odchylky s_r stanovení obsahu inulinu v referenčním materiálu, v Orafti GR a v jeho směsi s mlékem bylo možno porovnat se stejnými parametry obdobných materiálů, získaných při mezilaboratorní validaci výše uvedené metody AOAC 933.03. Zde presentované hodnoty s_r činily 0,71 pro referenční materiál (28,47 % fruktanu), 1,88 pro čistý preparát (95,87 % fruktanu) a 2,68 pro sušené mléko s přidávkou 10 % fruktanu a jsou tedy velmi dobře srovnatelné s našimi údaji v Tab. 1. Výsledky validace metody HK-FRUC jsme však nemohli porovnat s jinými relevantními údaji, neboť výrobce kitů její validaci neuvádí a taktéž při literární rešerši nebyly nalezeny žádné publikace s touto problematikou.

Závěr

Byla provedena implementace dvou analytických metod pro stanovení obsahu fruktanů, využívajících kity Megazyme K-FRUC a Megazyme HK-FRUC. Na základě uspokojivých výsledků interní validace lze obě metody doporučit pro stanovení inulinu nebo fruktooligosacharidů v mlékárenských výrobcích.

Práce byly provedeny v rámci projektu NAZV Ministerstva zemědělství ČR č. QI 91B274.

Literatura

- VELÍŠEK J. (1999): Chemie potravin 1, OSSIS Tábor, s. 215-216
- VIJN I., SMEEKENS S. (1999): Fructan: more than a reserve carbohydrate? *Plant Physiology*, 120 (2), s. 351-359.
- CRITTENDEN R.G., PLAYNE M. J. (1996): Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science and Technology* 7 (11), s. 353-361.
- ROBERFRÖID M. B., VAN LOO J.A.E., GIBSON G.R. (1998): The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *The Journal of Nutrition* 128 (1), s.11-19.
- YUN J.W. (1996): Fructooligosaccharides - occurrence, preparation and application. *Enzyme and Microbial Technology* 19 (2), s. 107-117.
- GIBSON G.R., PROBERT H.M., VAN LOO J., RASTALL R.A., ROBERFRÖID M.B. (2004): Dietary Modulation of the Human Colonic Mikrobiota: Updating the concept Prebiotics. *Nutrition Research Review* 17, s. 259-275.
- SUCHÁNEK M. (1999): KVALIMETRIE 6. Stanovení nejistoty analytického měření. *EURACHEM-ČR*, Praha, druhé vydání.

Přijato do tisku 5. 11. 2010

Lektorováno 19. 11. 2010

VÝBĚR BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ S PROBIOTICKÝMI VLASTNOSTMI

Šárka Horáčková, Kateřina Žaludová, Milada Pločková

Ústav technologie mléka a tuků, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT v Praze

Selection of lactic acid bacteria with probiotic properties

Souhrn

Mezi nejvíce zkoumané mikroorganismy s probiotickými vlastnostmi patří zástupci rodu *Lactobacillus*. Cílem práce bylo porovnat charakteristiky vybraných kmenů rodu *Lactobacillus* spojené s probiotickými vlastnostmi ve srovnání s komerčním probiotickým kmenem *L. casei* Lafti L26. U testovaných kmenů byly zjištěny rozdíly v růstových vlastnostech v MRS bujónu i mléce, enzymatické a hemolytické aktivitě. Rozdíly v rezistenci k antibiotikům byly nevýrazné. Kmeny vykazovaly rozdílnou odolnost vůči nízkému pH a přítomnosti žlučových solí. Všechny kmeny byly schopny různého stupně adaptace k žlučovým solím po 24 h kultivaci. Významné rozdíly v přežívání buněk při nízkém pH byly zjištěny v případě izolovaných buněk a buněk kultivovaných v mléce. Jako nejodolnější k podmínkám trávicího traktu byl vyhodnocen kmen *L. acidophilus* CCDM 151.

Klíčová slova: probiotika, *Lactobacillus*, tolerance ke žluči, tolerance k pH, enzymatická aktivita, antibiotická rezistence

Abstract

Lactobacilli are widely used and studied as probiotic microorganisms. The aim of this study was to compare the

properties associated with probiotic characters of selected *Lactobacillus* strains in comparison with commercial strain *L. casei* Lafti L26. The differences in growth properties in MRS broth and milk, in enzymatic and haemolytic activities were found. The differences in antibiotic resistance were insignificant. The strains showed different resistance against low pH and against bile salt concentration. All strains were able to adapt to the presence of bile salt after 24 h incubation. A significant difference in survival under low pH was found for the isolated cells compared to cells cultivated in milk. The strain *L. acidophilus* CCDM 151 was evaluated as the most resistant to the conditions of the digestive tract.

Key words: probiotic, *Lactobacillus*, bile tolerance, pH tolerance, enzymatic activity, antibiotic resistance

Úvod

Vliv mikroorganismů obsažených ve fermentovaných mléčných produktech na zdraví člověka je studován již od přelomu 19. a 20. století, kdy jejich pozitivní účinky popsal jako první ruský vědec Ilja Mečnikov. Probiotika jsou v současné době definována jako živé mikroorganismy, které při konzumaci v dostatečném množství mají prokazatelně příznivý vliv na zdraví hostitele (Vasiljevic, Shah, 2008).

Aby mohl být určitý mikroorganismus potvrzen jako probiotický, musí splňovat řadu kritérií: od bezpečnostních (původ kmene, bez přítomnosti patogenních účinků či přenositelných genů rezistence k antibiotikům), přes funkční (přežívání prostředí trávicího traktu, zdravotní benefit pro hostitele) až po technologická (vhodnost pro danou technologii, stabilita při skladování) (Saarela a kol., 2000). Nejčastěji bývají studována kritéria týkající se přežívání daného mikroorganismu v gastrointestinálním traktu a zdravotní benefity, které mikroorganismus přináší svému hostiteli. Přežívání a toleranci podmínek trávicího traktu mohou napomáhat i média či "nosiče", které vytvářejí ochranné prostředí pro probiotika. K takovýmto médiím patří i mléčné výrobky, které jsou dnes již běžně obohacovány probiotickými kmeny. Tuto funkci plní také prebiotika - nestravitelné složky potravy, často sacharidického původu, která by měla selektivně napomáhat růstu žádaných mikroorganismu (Huebner a kol., 2007).

V současné době se hledají stále nové kmeny bakterií, které by splňovaly výše uvedená kritéria. Cílem práce bylo porovnat růstové a některé funkční vlastnosti vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, které by bylo možné použít v dalším výzkumu jaké vhodné nosiče probiotických vlastností.

Materiál a metody

Použité mikroorganismy

- L. casei* Lafti L26 - DSM Food Specialities, Nizozemsko; gastrointestinální původ, komerční probiotický kmen
- L. acidophilus* CCDM 151 - sbírkový kmen, Laktoflora, MILCOM a.s.